

*ÉCOLE DOCTORALE Sciences, Santé, Technologie*

Université François-Rabelais de Tours

## THÈSE

présentée par :

**Emilie HEULAND**

soutenue le : **22 Juin 2009**

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François - Rabelais**

Discipline : Sciences de la Vie

Spécialité : Neurosciences

**EFFETS DE L'EXPOSITION PRENATALE AU MDMA  
(« ECSTASY ») OU AU METHYLPHENIDATE SUR LES  
SYSTEMES DOPAMINERGIQUES CHEZ LE RAT  
ADULTE**

THÈSE dirigée par :

**Madame CHALON Sylvie**

Directeur de Recherche Inserm, U930, Tours

RAPPORTEURS :

**Monsieur JABER Mohamed**

**Madame LANFUMEY Laurence**

Professeur, Université de Poitiers

Directeur de Recherche Inserm, U677, Paris

JURY :

**Monsieur ANDRES Christian**

**Madame CHALON Sylvie**

**Monsieur JABER Mohamed**

**Madame LANFUMEY Laurence**

**Madame VERNEY Catherine**

Professeur, Université François-Rabelais de Tours

Directeur de Recherche Inserm, U930, Tours

Professeur, Université de Poitiers

Directeur de Recherche Inserm, U677, Paris

Chargé de Recherche Inserm, U676, Paris



# Remerciements

Pour ces trois années de thèse, je tiens solennellement à remercier :

Le professeur Denis Guilloteau, directeur de laboratoire, de m'avoir accueillie au sein de l'unité INSERM U930.

Le docteur Sylvie Chalon, de m'avoir accordé sa confiance en acceptant d'être ma directrice de thèse, pour sa disponibilité et son aide précieuse au cours des différentes étapes qui ont composé ce travail.

Les docteurs Mohamed Jaber, Laurence Lanfumey, Catherine Verney et Christian Andres, d'avoir accepté et pris le temps d'évaluer mon travail de thèse.

Le professeur Catherine Belzung et le docteur Patrick Vourch, tout deux membres de l'INSERM U930, d'avoir permis d'ajouter une approche comportementale et moléculaire à ce travail.

Je souhaite aussi remercier très chaleureusement les membres de l'équipe avec qui j'ai partagé cette aventure : Sylvie Bodard, Zuhul Gulhan, Lucette Garreau, Laurent Galineau, Jacky Vergote, Nathalie Meheux, Marie-Christine Furon, Marie-Paule Vilar, Sylvie Mavel.

... mais aussi tous les étudiants avec qui j'ai partagé des bouts de paillasse, des idées et tant d'autres choses : Gaëlle Bouchez, Jinane Kassem, PuJao Song, Nicolas Giboureau, Ti Hu, Alexandre Surget, Ipek Yalcin, Nicolas Arlicot, Stéphanie Duval, Diane Dufour, Kat Leaver, Julien Fouque, Stéphanie Arpin.

... et les stagiaires que j'ai pu encadrer : Gwenola Bounet, Jonathan Roger, Julien Guéritée, Flavie Lemaire, Alexandra Kipper et Saloua Abdelmoumen.

## Résumé en français

Le méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA) et le méthylphénidate (MPH) sont des psychostimulants qui agissent sur les systèmes monoaminergiques. Au cours du développement, ces systèmes ont un rôle essentiel dans la croissance et la mise en place des circuits neuronaux. Ainsi, l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH peut affecter les processus de maturation cérébrale et induire des conséquences à court et long terme sur le fonctionnement du système nerveux central. L'objectif de ce travail a été d'évaluer l'intégrité neurobiochimique et fonctionnelle des systèmes dopaminergiques chez le rat adulte exposé en période prénatale à ces molécules.

Des rates gestantes ont reçu des injections quotidiennes de MDMA ou de MPH (10 mg/kg, s.c.) entre le 13<sup>ème</sup> et le 20<sup>ème</sup> jour de gestation. L'intégrité neurobiochimique des neurones dopaminergiques est évaluée sur la progéniture mâle et femelle adulte dans les deux modèles d'exposition. Les études ont consisté en 1) la quantification de la DA vésiculaire libérée sous stimulation pharmacologique grâce à la technique de microdialyse intracérébrale, au niveau du cortex préfrontal (CPF) et du noyau accumbens (NAc), et 2) l'évaluation de la densité de différentes protéines impliquées dans la neurotransmission dopaminergique, telles que les transporteurs membranaires (DAT) et vésiculaires (VMAT2), les récepteurs, et la tyrosine hydroxylase (TH). Dans le modèle d'exposition prénatale au MDMA, certains aspects moléculaires tels que le taux de prolifération cellulaire et l'expression de BDNF, et comportementaux tels que la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne, ont été étudiés chez la progéniture adulte, dans une démarche de compréhension des mécanismes impliqués et des conséquences fonctionnelles des altérations neurobiochimiques.

L'exposition prénatale au MDMA induit au niveau du mésencéphale une diminution des corps cellulaires immunoréactifs à la TH et de l'expression du BDNF chez les mâles et les femelles, ainsi que des modifications de la densité des transporteurs observées seulement chez les femelles. Au niveau des sites de projections, alors qu'aucune modification neurobiochimique n'est observée dans le NAc et le striatum, une augmentation de la densité de DAT est observée dans le CPF chez les femelles, associée à une tendance à la diminution du taux de DA vésiculaire. Le test de la préférence de lieu ne révèle pas de trouble du comportement de récompense. L'exposition prénatale au MPH induit quant à elle chez la progéniture adulte des modifications neurobiochimiques des voies nigrostriée et

mésolimbique, caractérisées par une diminution du taux de DA vésiculaire dans le NAc, une augmentation des RD2 au niveau du mésencéphale, ainsi que des RD1 dans le striatum. Aucune modification du taux de DA vésiculaire n'est observée dans le CPF dans ce modèle.

Ces résultats montrent que l'exposition au MDMA ou au MPH au cours d'une fenêtre de développement chez le rat qui correspond à la première moitié de la grossesse chez l'Homme, induit des modifications neurobiochimiques à long terme des circuits dopaminergiques. Cependant, alors que l'exposition prénatale au MDMA induit des modifications de la voie mésocorticale, plus accentuées chez la progéniture femelle, l'exposition prénatale au MPH a plutôt des conséquences sur les voies nigrostriée et mésolimbique. Ainsi, cette étude souligne une vulnérabilité à long terme des fonctions dopaminergiques sexe- et/ou structure- dépendante, à l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH.

Mots-clés : Autoradiographie ; BDNF ; Dopamine ; Exposition prénatale ; Méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA) ; Méthylphénidate (MPH) ; Microdialyse ; Modèle animal ; Neurogénèse ; Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne.

## Résumé en anglais

Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and methylphenidate (MPH) are psychostimulants that act directly on monoaminergic systems. During development, these systems have a key role in the growth and the functioning of neuronal circuitries. Thus, prenatal exposure to MDMA and MPH could affect developmental processes and lead to long-term consequences on central nervous system function. The objective of this work was to characterise specifically the structural and functional integrity of dopaminergic systems in adult rats prenatally exposed to these molecules.

Pregnant rats received subcutaneous daily injections of 10 mg/kg MDMA or MPH between the 13<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of gestation. Structural investigations of dopaminergic neurons were conducted separately in male and female progeny at adult age in both animal models. They consisted of 1) the measurement of pharmacologically induced dopamine (DA) release using in vivo microdialysis with a dual probe implantation in the prefrontal cortex (PFC) and nucleus accumbens (NAc) ; 2) the quantification of dopamine transporters (DAT) and vesicular monoamine transporters (VMAT2) densities and tyrosine hydroxylase (TH) immunoreactivity in the nerve endings and cell bodies of dopaminergic neurons. In the MDMA exposure model, studies of specific molecular aspects such as cell proliferation and BDNF expression, and behavioural aspects such as evaluation of the rewarding effects of cocaine in a conditioned place preference paradigm, were conducted in order to approach the mechanisms and functional consequences of the dopaminergic alterations.

Prenatal MDMA exposure led to a reduction in the number of TH immunoreactive cell bodies and in BDNF expression in the midbrain in both male and female progeny, associated exclusively in females with significant changes in the DAT and VMAT2 density. In the PFC, prenatal exposure to MDMA resulted in a tendency to decrease in the stimulated release of DA in both males and females, associated with a significant increase in DAT density in females only. In contrast, dopaminergic markers remained similar to controls in the NAc and striatum of the MDMA group. Moreover, prenatal MDMA exposure did not alter the cocaine conditioned place preference test. In the model of prenatal MPH exposure, male and female progeny from the MPH group showed a significant decrease in the stimulated release of DA in the NAc, but no change in the PFC. Evaluation of dopaminergic markers by autoradiography realised in male progeny revealed an increase in RD2 density in the midbrain and in RD1 in the striatum in the MPH group.

These results demonstrated that persistent neurobiochemical changes in cell bodies and nerve endings of dopaminergic pathways occurred in rat models of prenatal exposure to MDMA or MPH during a period of brain development corresponding to the 1<sup>st</sup> half of gestation in humans. A prenatal exposure to MDMA induces specific alterations in the midbrain and in the mesocortical dopaminergic projections with a higher vulnerability in female progeny and has little or no effect in mesolimbic and nigrostriatal projections. By contrast, a prenatal exposure to MPH led to neurobiochemical alterations in these two dopaminergic pathways. These findings underlined a basis for sex- and/or region-selective vulnerability of the dopaminergic systems consecutive to the prenatal exposure to MDMA or MPH.

*Keywords:* Animal models ; Autoradiography ; BDNF ; Conditioned place preference ; Dopamine markers ; Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) ; Methylphenidate (MPH) ; Microdialysis ; Neurogenesis ; Prenatal exposure.

# Tables des matières

<i>Remerciements</i>	3
<i>Résumé en français</i>	4
<i>Résumé en anglais</i>	6
<i>Tables des matières</i>	8
<i>Liste des tableaux</i>	13
<i>Liste des figures</i>	14
<i>Liste des annexes</i>	16
<i>Abbréviations</i>	17
 <b>INTRODUCTION</b>	 19
 <b>PARTIE 1 : PSYCHOSTIMULANTS ET SYSTEMES MONOAMINERGIQUES</b>	 21
 <b>I. Généralités sur les psychostimulants</b>	 21
 <b>II. Systèmes dopaminergiques et sérotoninergiques chez l'adulte</b>	 25
<b>A. Systèmes dopaminergiques</b>	25
1. Neurones mésencéphaliques	25
2. Neurones diencephaliques et télencéphaliques	28
<b>B. Systèmes sérotoninergiques</b>	29
 <b>III. Le méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA)</b>	 30
<b>A. Historique et consommation</b>	30
<b>B. Métabolisation et pharmacocinétique</b>	32
<b>C. Effets aigus du MDMA</b>	34
1. Libération des monoamines	34
a. Système sérotoninergique	34
b. Système dopaminergique	37
c. Système noradrénergique	39
d. Système cholinergique	39
e. Autres systèmes de neurotransmission	40
2. Effets neurobiochimiques et physiologiques	40
a. Effets sur l'expression de gènes	40
b. Effets sur la thermorégulation	41
c. Effets sur la neurogénèse et les facteurs neurotrophiques	42
3. Effets comportementaux	42
a. Chez l'Homme	42
b. Chez l'animal	43
4. Différences entre les sexes	44
<b>D. Effets à long terme et neurotoxicité</b>	45
1. Chez l'Homme	45



a. Déficits cognitifs	45
b. Potentielle neurotoxicité	45
c. Différences entre les sexes	46
2. Chez l'animal	46
a. Altérations sérotoninergiques	46
b. Altérations dopaminergiques	47
c. Déficits comportementaux	48
<b>E. Mécanismes potentiels de la neurotoxicité</b>	<b>48</b>
1. Rôle des métabolites du MDMA	48
2. Rôle de la 5HT et de ses métabolites	49
3. Rôle de la DA	50
4. Rôle de l'hyperthermie	51
 <b>IV. Le méthylphénidate (MPH)</b>	 <b>52</b>
<b>A. Historique et consommation</b>	<b>52</b>
<b>B. Métabolisation et pharmacocinétique</b>	<b>53</b>
<b>C. Effets aigus du MPH</b>	<b>54</b>
1. Augmentation des catécholamines dans la fente synaptique	54
2. Effets neurobiochimiques	55
a. Redistribution des vésicules de stockage dans la terminaison synaptique	55
b. Régulation de l'expression de molécules impliquées dans la signalisation neuronale	56
3. Effets comportementaux	57
a. Chez l'Homme	57
b. Chez l'animal	58
<b>D. Effets à long terme : une drogue potentiellement toxicomanogène ?</b>	<b>59</b>
1. Chez l'Homme	59
2. Chez l'animal	60
a. Effets comportementaux à long terme	60
b. Effets neurobiochimiques à long terme	60
 <b>PARTIE 2 : EXPOSITION DU CERVEAU EN DEVELOPPEMENT AU MDMA OU AU MPH</b>	 <b>62</b>
<b>I. Développement cérébral</b>	<b>62</b>
<b>A. Etapes du développement cérébral chez l'Homme</b>	<b>62</b>
1. Production des précurseurs neuronaux	62
2. Croissance et migration neuronale	63
3. Neuritogénèse et synaptogénèse	63
4. Mort cellulaire programmée	63
5. Neurogénèse adulte	64
<b>B. Comparaison du développement cérébral chez l'Homme et chez le rat</b>	<b>65</b>
<b>C. Développement des systèmes monoaminergiques</b>	<b>66</b>
1. Chez l'Homme	66
a. Développement des neurones dopaminergiques	66
b. Développement des neurones sérotoninergiques	67
2. Chez le rat	68
a. Développement des neurones dopaminergiques	68
b. Développement des neurones sérotoninergiques	72
<b>D. Facteurs influençant le développement et le maintien des neurones monoaminergiques</b>	<b>72</b>
1. Les facteurs de transcription et de croissance	72
2. Les monoamines	73
a. La sérotonine	74
b. La dopamine	75

<b>E. Exposition précoce aux psychostimulants et troubles du développement</b>	<b>76</b>
<b><i>II. Effets d'une exposition au MDMA sur le cerveau en développement</i></b>	<b>78</b>
<b>A. Chez l'Homme</b>	<b>78</b>
<b>B. Chez le rat</b>	<b>78</b>
1. Pharmacocinétique	79
2. Exposition néonatale au MDMA	79
a. Conséquences sur les systèmes monoaminergiques	80
b. Conséquences comportementales	83
2. Exposition prénatale au MDMA	85
a. Conséquences sur les systèmes sérotoninergiques	85
b. Conséquences sur les systèmes dopaminergiques	87
c. Conséquences comportementales	87
<b><i>III. Effets d'une exposition au MPH sur le cerveau en développement</i></b>	<b>89</b>
<b>A. Exposition au MPH pendant la période juvénile</b>	<b>89</b>
1. Chez l'Homme	89
2. Chez le rongeur	90
<b>B. Exposition périnatale au MPH</b>	<b>92</b>
1. Chez l'Homme	92
2. Chez le rongeur	93
a. Exposition périnatale au MPH	93
b. Exposition prénatale au MPH	94
<b><i>OBJECTIFS</i></b>	<b>95</b>
<b><i>MATERIELS ET METHODES</i></b>	<b>101</b>
<b><i>I. Animaux et protocoles</i></b>	<b>103</b>
<b>A. Animaux</b>	<b>103</b>
<b>B. Protocoles d'exposition</b>	<b>103</b>
1. Exposition prénatale au MDMA	104
2. Exposition prénatale au MPH	106
<b><i>II. Etudes réalisées sur la progéniture</i></b>	<b>107</b>
<b>A. Microdialyse intracérébrale au niveau du cortex préfrontal et du noyau accumbens</b>	<b>107</b>
1. Chirurgie	107
2. Implantation des guides canules	108
3. Implantation des sondes	109
4. Recueil des dialysats et stimulation à la Tyramine	109
<b>B. Quantification par HPLC des monoamines</b>	<b>110</b>
<b>C. Quantification de marqueurs neuronaux dopaminergiques par autoradiographie.</b>	<b>111</b>
<b>D. Marquage immunohistochimique de la tyrosine hydroxylase et du BrdU</b>	<b>113</b>
1. Administration du BrdU	113
2. Préparation des tissus	113
3. Réalisation des coupes	114

4. Protocole de marquage	114
5. Protocole de quantification	115
a. Tyrosine hydroxylase	116
b. BrdU	116
<b>E. Quantification des ARNm de BDNF</b>	<b>117</b>
1. Recueil des structures	117
2. Extraction des ARN totaux	117
3. RT-PCR en temps réel	118
<b>F. Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne</b>	<b>120</b>
<b>G. Traitement statistique</b>	<b>121</b>
 <b>RESULTATS</b>	 <b>123</b>
 <b><i>I. Effets d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes dopaminergiques du rat adulte</i></b>	 <b><i>125</i></b>
<b>A. Paramètres physiologiques</b>	<b>125</b>
1. Poids et température corporelle des rates gestantes	125
2. Caractéristiques de la portée	126
3. Evolution du poids des petits	128
<b>B. Etude par microdialyse des taux vésiculaires de DA vésiculaire libérée sous stimulation à la tyramine</b>	<b>129</b>
1. Noyau Accumbens	129
2. Cortex Préfrontal	130
<b>C. Etude autoradiographique de différents marqueurs neuronaux dopaminergiques</b>	<b>132</b>
1. Voie mésocorticolimbique	132
a. Aire tegmentale ventrale	132
b. Cortex préfrontal	134
c. Noyau accumbens	136
2. Voie nigro striée	137
a. Substance noire compacte	137
b. Striatum	137
<b>D. Immunohistochimie anti-tyrosine hydroxylase</b>	<b>139</b>
<b>E. Prolifération cellulaire</b>	<b>141</b>
1. Chez la progéniture en développement	141
2. Chez l'adulte	141
<b>F. Quantification de l'ARNm codant pour le BDNF</b>	<b>142</b>
<b>G. Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne</b>	<b>144</b>
 <b><i>II. Effets d'une exposition prénatale au MPH sur les systèmes dopaminergiques du rat adulte</i></b>	 <b><i>145</i></b>
<b>A. Paramètres physiologiques</b>	<b>145</b>
<b>B. Etude par microdialyse des taux de DA vésiculaire libérée sous stimulation à la tyramine</b>	<b>146</b>
1. Noyau Accumbens	146
2. Cortex préfrontal	146
<b>C. Etude autoradiographique de différents marqueurs neuronaux dopaminergiques</b>	<b>148</b>

<b><i>I. Exposition prénatale au MDMA</i></b>	<b>154</b>
<b>A. Perturbations neurobiochimiques à long terme des voies dopaminergiques</b>	<b>154</b>
1. Etude du mésencéphale	156
2. Voie nigrostriée	160
3. Voie mésolimbique	160
4. Voie mésocorticale	161
<b>C. Conséquences fonctionnelles</b>	<b>162</b>
1. Comportement de récompense	162
2. Comportement de locomotion	164
3. Fonctions exécutives	164
4. Comportement d'anxiété	166
<b>D. Mécanismes potentiels des effets du MDMA</b>	<b>166</b>
1. Action directe sur le cerveau en développement	167
2. Action indirecte via la mère	167
<b>E. Vulnérabilité sexe dépendante</b>	<b>168</b>
 <b><i>II. Exposition prénatale au MPH</i></b>	 <b>171</b>
<b>A. Etude du mésencéphale</b>	<b>171</b>
<b>B. Voie nigrostriée</b>	<b>173</b>
<b>C. Voie mésocorticale</b>	<b>173</b>
<b>D. Voie mésolimbique</b>	<b>174</b>
 <b><i>III. Perspectives d'études neurobiochimiques dans ces deux modèles</i></b>	 <b>175</b>
<b>A. Evaluation de différentes molécules impliquées dans le transport vésiculaire</b>	<b>175</b>
<b>B. Caractérisations complémentaires des voies dopaminergiques</b>	<b>178</b>
1. Evaluation stéréologique des fibres TH+ dans le cortex	178
2. Quantification des taux de DA dans le mésencéphale	178
<b>C. Evaluation neurobiochimique des autres systèmes de neurotransmission monoaminergique</b>	<b>179</b>
 <b><i>IV. Exposition prénatale au MDMA et au MPH : facteurs de vulnérabilité dans les maladies neuropsychiatriques ?</i></b>	 <b>181</b>
<b>A. Hyporégulation du phénotype dopaminergique des neurones mésencéphaliques : neurodégénérescence ?</b>	<b>181</b>
<b>B. Dopamine corticale, cognition et schizophrénie</b>	<b>183</b>
<b>C. Exposition prénatale au MPH : facteur protecteur contre l'addiction ?</b>	<b>185</b>
 <b><i>Conclusion</i></b>	 <b>189</b>

# Liste des tableaux

Tableau 1: Psychostimulants à usage thérapeutique.	21
Tableau 2 : Conséquences à court terme d'une exposition aigue postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.	80
Tableau 3 : Conséquences à moyen terme d'une exposition postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.	81
Tableau 4 : Conséquences à long terme d'une exposition postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.	83
Tableau 5 : Conséquences comportementales d'une exposition postnatale au MDMA.	84
Tableau 6 : Conséquences d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes sérotoninergiques.	86
Tableau 7 : Conséquences d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes dopaminergiques.	87
Tableau 8 : Conséquences à moyen terme d'une exposition chronique au MPH pendant la période de préadolescence.	90
Tableau 9 : Conséquences à long terme d'une exposition chronique au MPH pendant la période de préadolescence.	91
Tableau 10 : Caractéristiques des sondes et paramètres de microdialyse.	107
Tableau 11 : Caractéristiques expérimentales des différents protocoles d'autoradiographie.	112
Tableau 12 : Régions d'intérêts et épaisseur des coupes pour les marquages immunohistochimiques.	114
Tableau 13 : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées pour l'amplification des gènes GAPDH et BDNF.	118
Tableau 14 : Protocole de PCR en temps réel.	119
Tableau 15 : Caractéristiques physiologiques des rates gestantes pendant la période d'exposition et des portées à la naissance.	125
Tableau 16 : Evolution du poids des petits de la naissance au sevrage en fonction de l'exposition prénatale et du sexe.	128
Tableau 17 : Densité de [ <sup>125</sup> I]-PE2I et [ <sup>3</sup> H]-DTBZ au niveau du noyau accumbens de rats adultes exposés en période prénatale au MDMA.	136
Tableau 18 : Densité de [ <sup>125</sup> I]-PE2I et de [ <sup>3</sup> H]-DTBZ au niveau du striatum chez les rats adultes exposés en période prénatale MDMA.	137
Tableau 19 : Densité des projections neuronales marquées à la tyrosine hydroxylase au niveau du noyau accumbens (NAc) et du striatum chez les rats adultes exposés en période prénatale au MDMA.	140
Tableau 20 : Prolifération cellulaire dans la zone subgranulaire du gyrus dentelé (SGZ) et de la zone subventriculaire (SVZ) de rats adultes exposés en période prénatale au MDMA.	142
Tableau 21 : Caractéristiques physiologiques des rates gestantes pendant la période d'exposition au MPH et des portées à la naissance.	145
Tableau 22 : Evolution du poids des petits de la naissance au sevrage en fonction de l'exposition prénatale et du sexe.	145
Tableau 23 : Densité de [ <sup>3</sup> H]-SCH23390 (1), de [ <sup>3</sup> H]-YM-091516-2 (2) et du [ <sup>3</sup> H]-DTBZ (3) au niveau du mésencéphale et des aires de projections des voies mésolimbique et nigrostriée chez la progéniture mâle adulte exposée au MPH en période prénatale.	148

# Liste des figures

Figure 1 : Composés dont la structure chimique s'apparente à celle du MDMA et du MPH.	22
Figure 2 : Mécanismes d'action des psychostimulants.	24
Figure 3: Positions et projections axonales des différents groupes de neurones dopaminergiques sur une coupe cérébrale sagittale de rat adulte..	25
Figure 4 : Localisation anatomique des corps cellulaires de la voie mésostriatale (nigrostriée), mésoaccumbale (sous partie de la voie mésolimbique) et mésocorticale chez le rat.	28
Figure 5 : Localisation anatomique des voies sérotoninergiques chez le rat.	29
Figure 6 : Pilules d'ecstasy aux couleurs et motifs caractéristiques.	31
Figure 7 : Schéma des deux voies majeures de métabolisation du MDMA.	32
Figure 8 : Mécanismes responsables de l'effet du MDMA sur la libération massive de sérotonine.	35
Figure 9 : Hypothèses sur les mécanismes responsables de l'effet du MDMA sur la libération massive de dopamine (DA).	38
Figure 10 : Hypothèses sur les mécanismes responsables de la neurotoxicité du MDMA sur les terminaisons sérotoninergique.	50
Figure 11 : Structure des quatre énantiomères du méthylphénidate.	53
Figure 12 : Périodes clés du développement cérébral chez l'homme et le rat.	66
Figure 13 : Ontogénèse des projections de la voie mésostriatale.	69
Figure 14 : Ontogénèse des projections mésocorticales.	70
Figure 15 : Elimination sélective (ou élagage) des axones des neurones dopaminergiques du mésencéphale, observée entre la période prénatale et le stade adulte.	71
Figure 16 : Protocoles d'exposition au MDMA sur les rates gestantes et études réalisées sur la progéniture.	105
Figure 17 : Protocole d'exposition au MPH sur les rates gestantes et études réalisées sur la progéniture adulte.	106
Figure 18 : Implantation des sondes de microdialyse au niveau du cortex préfrontal et du noyau accumbens.	108
Figure 19 : Dopamine recueillie par microdialyse en fonction de la solution infusée dans les sondes.	110
Figure 20 : Schéma du dispositif dans lequel est effectué le conditionnement de la préférence de lieu à la cocaïne.	120
Figure 21 : Effet de l'administration du MDMA sur la température corporelle des rates gestantes.	127
Figure 22 : Effet de la perfusion in situ de tyramine (0,6 mM) sur les taux de dopamine au niveau du Noyau Accumbens des rats vigiles adultes (P70) exposés en période prénatale au MDMA.	129
Figure 23: Exemple de chromatogrammes obtenus au cours de la stimulation à la tyramine dans le cortex préfrontal chez un animal.	130
Figure 24 : Augmentation du taux de DA extracellulaire libérée sous stimulation pharmacologique par rapport à la libération basale dans le CPF chez des rats vigiles adultes (P70) exposés en période prénatale au MDMA.	131
Figure 25 : Fixation du [ <sup>125</sup> I]-PE2I (A), du [ <sup>3</sup> H]-DTBZ (B) et du [ <sup>3</sup> H]-YM-09151-2 (C) dans l'ATV d'animaux adultes exposés en période prénatale au MDMA	133
Figure 26 : Fixation au niveau du cortex préfrontal du [ <sup>125</sup> I]-PE2I (B), du [ <sup>3</sup> H]-DTBZ (C) et du [ <sup>3</sup> H]-SCH23390 (D), d'animaux adultes exposés en période prénatale au MDMA.	135
Figure 27 : Autoradiographie de la fixation du [ <sup>3</sup> H]-DTBZ au VMAT2 sur une coupe frontale de cerveau au niveau du noyau accumbens.	136

<b>Figure 28 : Fixation du [<sup>125</sup>I]-PE2I (A), du [<sup>3</sup>H]-DTBZ (B) et du [<sup>3</sup>H]-YM-09151-2 (C) dans la SNc d'animaux adultes exposés en période prénatale au MDMA.</b>	<b>138</b>
<b>Figure 29 : Marquage immunohistochimique de la TH sur coupe frontale au niveau de l'ATV et de la SNc.</b>	<b>139</b>
<b>Figure 30 : Nombre de corps cellulaires immunoréactifs à la TH au niveau de l'ATV et de la SNc de rats adultes exposés en période prénatale au MDMA.</b>	<b>140</b>
<b>Figure 31 : Prolifération cellulaire évaluée à différents stades de développement au niveau du gyrus dentelé de rats exposés en période prénatale au MDMA.</b>	<b>141</b>
<b>Figure 32 : Expression relative du gène du BDNF mesurée par RT-PCR en temps réel au niveau de différentes structures cérébrales de rats adultes exposés en période prénatale au MDMA.</b>	<b>143</b>
<b>Figure 33 : Effet de l'exposition prénatale au MDMA sur la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne.</b>	<b>144</b>
<b>Figure 34 : Effet de la perfusion in situ de tyramine sur les taux de DA extracellulaire dans le NAc et le CPF des rats vigiles adultes exposés en période prénatale au MPH.</b>	<b>147</b>
<b>Figure 35 : Récapitulatifs des effets de l'exposition prénatale au MDMA chez la progéniture adulte.</b>	<b>155</b>
<b>Figure 36 : Récapitulatifs des effets de l'exposition prénatale au MPH chez la progéniture adulte.</b>	<b>172</b>
<b>Figure 37 : Localisation des deux types de vésicules de stockage.</b>	<b>176</b>

## Liste des annexes

Annexe 1 : Article en soumission dans le journal Brain Research.

« Prenatal MDMA exposure delays postnatal development in the rat. » Heuland E., Galineau L., Germaux M.A., Griebel G., Chalon S., Belzung C. 220



## Abbréviations

<b>5-HIAA</b>	Acide 5-hydroxyindolacétique
<b>5-HT</b>	5-hydroxytryptamine
<b>6-OHDA</b>	6-hydroxydopamine
<b>AP</b>	Antero-Postérieur
<b>ATV</b>	Aire tegmentale ventrale
<b>BDNF</b>	Brain derived neurotrophic factor
<b>BrdU</b>	5-bromo-2'-deoxyuridine
<b>COMT</b>	Catéchol-O-méthyltransférase
<b>CPF</b>	Cortex préfrontal
<b>Ct</b>	Cycle seuil
<b>DA</b>	Dopamine
<b>DAB</b>	Diaminobenzylène
<b>DAT</b>	Transporteur membranaire de la dopamine
<b>DG</b>	Gyrus denté
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>DTBZ</b>	Dihydrotetrabenazine
<b>DV</b>	Dorso-Ventral
<b>E</b>	Jour de vie embryonnaire
<b>G</b>	Jour de gestation
<b>GABA</b>	Acide $\gamma$ aminobutyrique
<b>HHA</b>	3,4-dihydroxiamphétamine
<b>HHMA</b>	3,4-dihydrométhamphétamine
<b>HMA</b>	4-hydroxy-3-méthoxyamphétamine
<b>HPLC</b>	Chromatographie liquide à haute pression
<b>HVA</b>	Acide homovanilique
<b>L-DOPA</b>	L-3,4-dihydrophénylalanine
<b>LV</b>	Vésicule à coeur dense (Large Dense Core Vesicle)
<b>MAO-A</b>	Monoaminoxidase A
<b>MAO-B</b>	Monoaminoxidase B
<b>MDA</b>	Méthylènedioxyamphétamine
<b>MDMA</b>	3,4-méthylènedioxyméthamphétamine
<b>ML</b>	Median-Latéral

<b>MPH</b>	Méthylphénidate
<b>NAC</b>	Noyau Accumbens
<b>NE</b>	Noradrénaline
<b>NET</b>	Transporteur membranaire de la noradrénaline
<b>P</b>	Jour de vie postnatale
<b>PBS</b>	Phosphate Buffer Saline
<b>PKC</b>	Protéine kinase C
<b>RT-PCR</b>	Transcription inverse – Réaction de polymérisation en chaîne
<b>SEM</b>	Ecart sur la moyenne
<b>SERT</b>	Transporteur de la sérotonine
<b>SGZ</b>	Zone subgranulaire
<b>SN</b>	Substance noire
<b>SNe</b>	Substance noire compacta
<b>SNC</b>	Système nerveux central
<b>Str</b>	Striatum
<b>SV</b>	Vésicule synaptique
<b>SVZ</b>	Zone subventriculaire
<b>TDAH</b>	Trouble déficitaire de l'attention et d'hyperactivité
<b>TH</b>	Tyrosine hydroxylase
<b>TPH</b>	Tryptophane hydroxylase
<b>VMAT2</b>	Transporteur vésiculaire des monoamines
<b>VL</b>	Ventricule latéral

---

# INTRODUCTION

---



# PARTIE 1 : PSYCHOSTIMULANTS ET SYSTEMES MONOAMINERGIQUES

---

## I. Généralités sur les psychostimulants

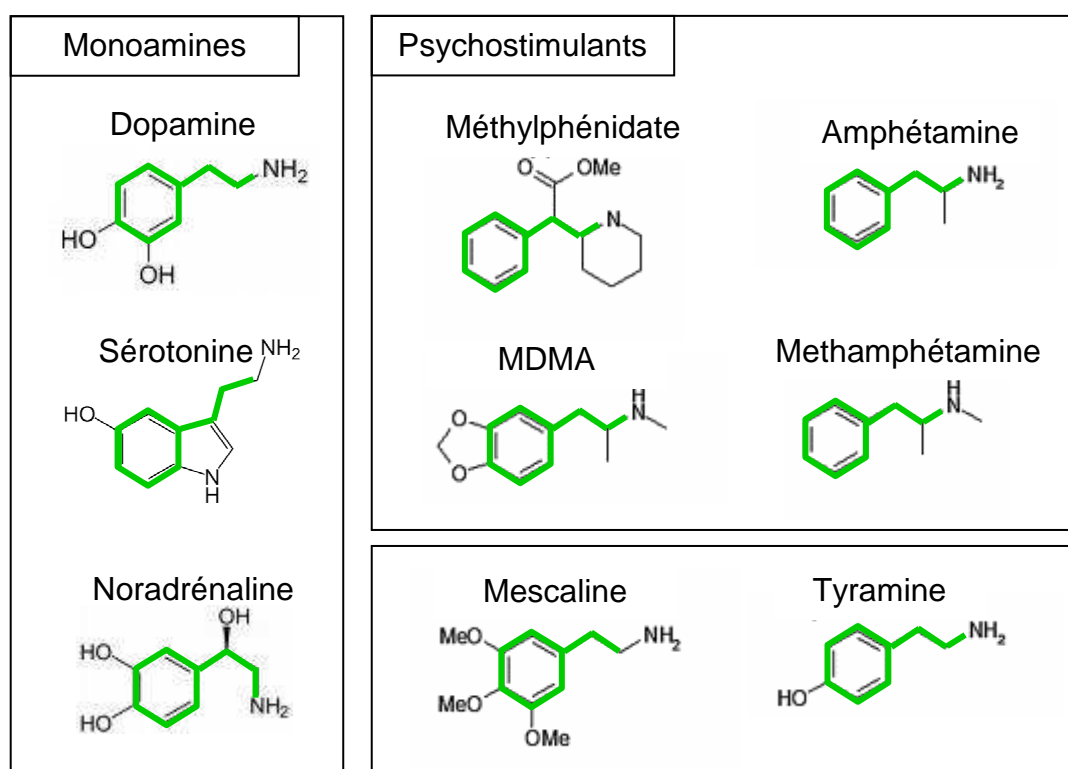
Les psychostimulants correspondent à une classe de molécules qui stimulent le système nerveux central (SNC) et produisent chez l'homme un spectre d'effets caractérisés par une augmentation de la vigilance, une stimulation cardiovasculaire, une amélioration de l'humeur et une réduction de la fatigue. Chez l'animal, les psychostimulants augmentent l'activité de locomotion et sont facilement auto-administrés en raison de leur puissante propriété renforçante. Les psychostimulants les plus consommés actuellement chez l'homme, selon un rapport de 2008 de la National Institute of Drug Abuse (NIDA), sont : l'amphétamine et ses dérivés structurels - comme la méthamphétamine-, la cocaïne et le 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA). Certains psychostimulants sont des molécules prescrites dans le cadre du traitement des troubles déficitaires de l'attention et d'hyperactivité (TDAH), de la narcolepsie ou de troubles alimentaires (Tableau 1). Cependant, certaines de ces molécules prescrites sont consommées dans un cadre non médical. Ainsi, un même psychostimulant peut représenter tour à tour un médicament ou une substance d'abus selon le contexte dans lequel il est consommé ; c'est le cas de l'amphétamine et du méthylphénidate (MPH).

**Tableau 1: Psychostimulants à usage thérapeutique.**

<b>Molécules thérapeutiques</b>	<b>Indications</b>
Méthylphénidate	TDAH
Amphétamine	TDAH, Narcolepsie
Phentermine	Anorexie
Diethylpropion	Anorexie
Phendimetrazine	Anorexie
Benzphetamine	Anorexie

TDAH : Troubles déficitaires de l'attention et d'hyperactivité.

La majorité des psychostimulants présente une structure chimique composée d'un cycle phényle connecté à un groupement amine par une chaîne carbonée. Ce squelette, dont les structures sont indiquées en vert sur la Figure 1, est commun aux monoamines (dopamine, noradrénaline et sérotonine). A ce squelette commun, peuvent être greffés d'autres groupements, de type hydroxy, methoxy, pyrrole ou encore ester. Le 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA) est un dérivé amphétaminique. Par son noyau indole, il présente une similitude de configuration spatiale plus spécifique avec la sérotonine. De plus, la présence d'un groupement méthylènedioxy (O-CH<sub>2</sub>-O-) en position 3 et 4 du cycle phényl lui confère une ressemblance structurelle avec la mescaline, molécule hallucinogène. Le méthylphénidate (MPH) n'est pas quant à lui, un dérivé amphétaminique, mais pipéridinique qui possède deux centres de chiralité.



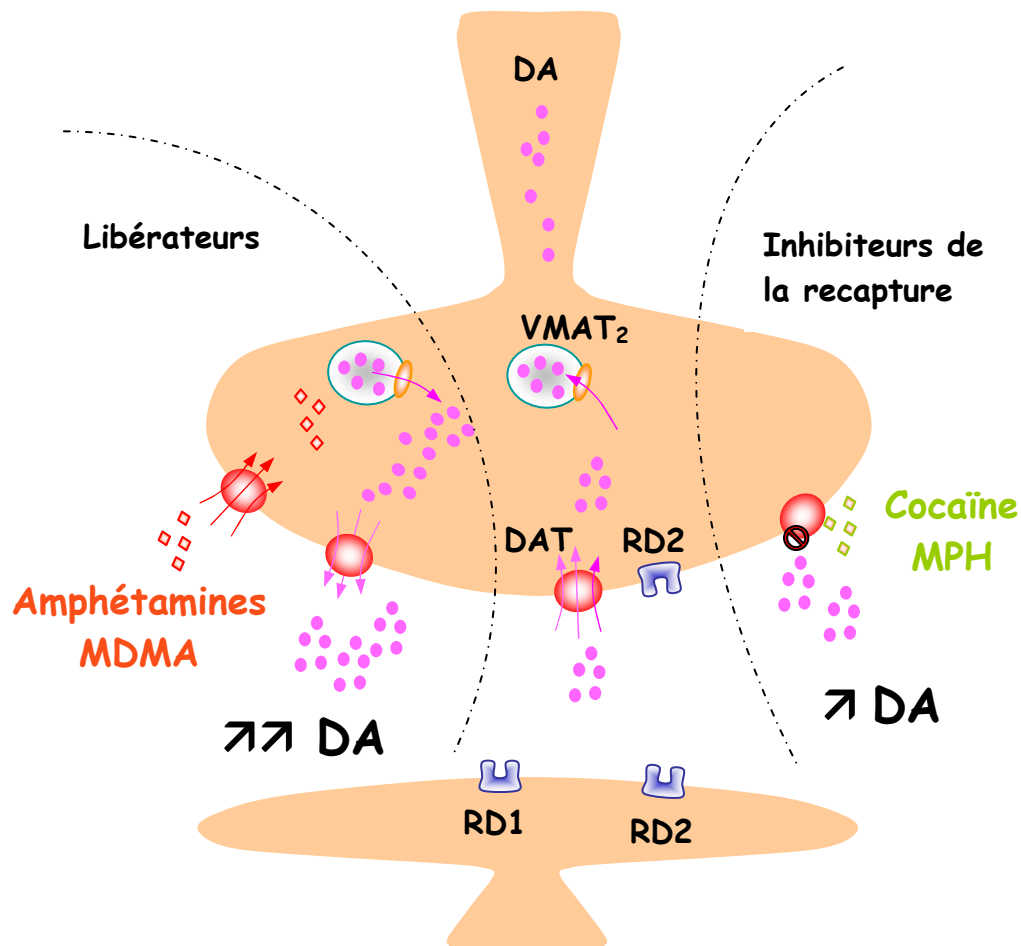
**Figure 1 : Composés dont la structure chimique s'apparente à celle du MDMA et du MPH. Le squelette commun à toutes ces molécules est indiqué en vert.**

Comme il vient d'être décrit, les psychostimulants présentent des structures similaires aux monoamines. Grâce à cette analogie, ils ont pour caractéristiques de se lier aux différents transporteurs membranaires et vésiculaires des monoamines. Ces transporteurs sont des molécules clés dans la régulation de l'homéostasie des monoamines synaptiques, cytoplasmiques et vésiculaires. Les transporteurs membranaires ont un rôle critique dans la régulation de l'intensité et de la durée de la neurotransmission par recapture des monoamines

de la fente synaptique vers la terminaison présynaptique. Selon les conditions ioniques, ils peuvent fonctionner de façon bidirectionnelle (Hitri et al. 1994). Les transporteurs vésiculaires des monoamines (VMAT2) transportent les monoamines cytosoliques dans les vésicules de stockage. Dans celles-ci, leur concentration est de l'ordre de 0,1M, alors qu'elle est inférieure au  $\mu\text{M}$  dans le cytoplasme (Elsworth et Roth, 1997). Le stockage des monoamines dans les vésicules permet de les rendre disponibles pour une libération extracellulaire en réponse à une stimulation. De plus, il assure une protection contre l'environnement cytoplasmique au pH neutre, où sont présentes les enzymes catabolisantes et des peroxydes ou radicaux libres responsables de leur oxydation.

En se liant à ces transporteurs, les psychostimulants perturbent la signalisation monoaminergique. Il en résulte une élévation de la concentration des monoamines dans la fente synaptique. Cependant, tous les psychostimulants ne présentent pas la même affinité pour les différents transporteurs et les mécanismes responsables de l'augmentation du taux de monoamines dans le milieu extraneuronal peuvent être différents. Bien qu'il manque de reproductibilité pour déterminer avec certitude les constantes pharmacodynamiques des psychostimulants pour chacune de leurs cibles (Han et Gu, 2006), on peut souligner des profils d'affinité bien différents. Par exemple, la cocaïne a une affinité approximativement similaire pour les transporteurs de la dopamine (DAT), de la sérotonine (SERT) et de la noradrénaline (NET). L'affinité de l'amphétamine et du MPH pour le SERT est plus basse comparée à celle pour le DAT et le NET, et inversement pour le MDMA.

Il existe deux mécanismes connus par lesquels les psychostimulants induisent l'augmentation de la quantité de monoamines dans la fente synaptique. Ces deux mécanismes permettent de distinguer deux classes : les inhibiteurs de la recapture et les libérateurs (Fleckenstein et al. 2000 ; Rothman et Baumann, 2003). Les inhibiteurs de la recapture se lient aux transporteurs membranaires et bloquent le transport des monoamines qui s'accumulent alors dans le milieu extraneuronal. La cocaïne et le MPH font partie de cette première classe. Les libérateurs, quant à eux, se lient aux transporteurs et sont transportés grâce à ces derniers dans le cytoplasme. En interférant avec le processus de stockage vésiculaire, ils augmentent le taux de monoamine cytoplasmique qui est alors libéré dans la fente synaptique via un transport inversé du transporteur membranaire (Rudnick et Clark, 1993). Les amphétamines et leurs dérivés sont des libérateurs. Ces deux mécanismes sont schématiquement décrits dans la Figure 2, dans laquelle est représentée une synapse dopaminergique.



**Figure 2 : Mécanismes d'action des psychostimulants.** Représentation d'une synapse dopaminergique incluant les terminaisons pré- et post-synaptiques. La DA est stockée dans les vésicules des terminaisons neuronales via le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT2). La DA relarguée dans la fente synaptique peut se lier aux récepteurs postsynaptiques, de type D1-like (RD1) et D2-like (RD2). Les RD2 sont aussi localisés sur les membranes présynaptiques, et interviennent dans le mécanisme de rétrocontrôle négatif de la libération de la DA. Le transporteur de la DA (DAT) est situé sur la membrane du neurone présynaptique. Il a un rôle critique dans la régulation de l'intensité et de la durée de la neurotransmission dopaminergique par recapture de la DA de la fente synaptique vers la terminaison présynaptique.

Les psychostimulants agissent sur le DAT et altèrent indirectement la stimulation des récepteurs dopaminergiques. Les inhibiteurs de la recapture comme la cocaïne et le méthylphénidate (MPH) bloquent le DAT et inhibent le transport intracellulaire de la DA, prolongeant ainsi son effet dans la synapse. Les libérateurs de monoamines, comme l'amphétamine et ses dérivés, sont transportés dans le cytoplasme par le DAT et agissent en libérant la DA vésiculaire qui, via un fonctionnement en mode inversé du DAT, est libérée dans la fente synaptique.



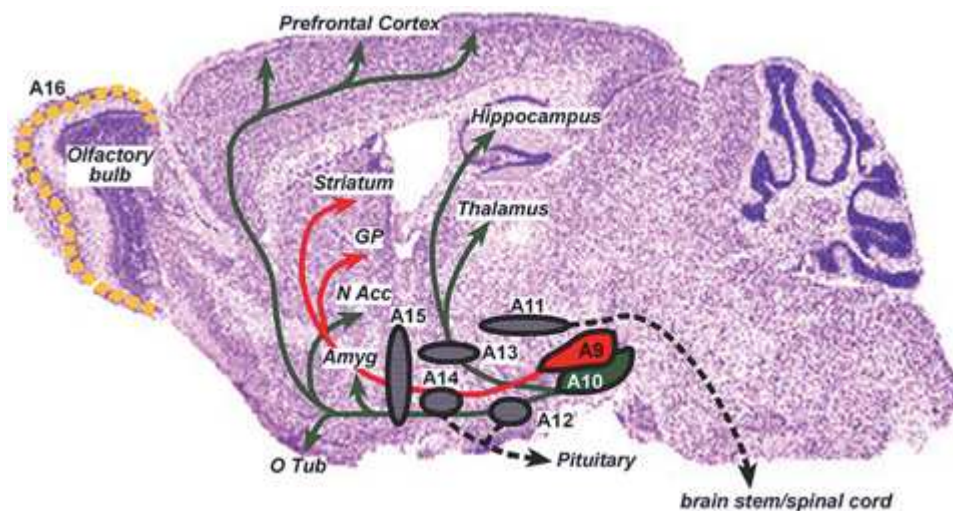
## II. Systèmes dopaminergiques et sérotoninergiques chez l'adulte

Les réponses neurobiochimiques et comportementales que peuvent induire les psychostimulants sont très dépendantes des systèmes neuronaux activés. Leurs effets comportementaux associés à leurs propriétés addictives sont étroitement liés à l'activation des systèmes dopaminergiques des voies mésocorticolimbiques, alors que les effets sur l'humeur sont plutôt la conséquence de l'activation des systèmes sérotoninergiques. Ces deux systèmes neuronaux sont décrits ci-dessous.

### A. Systèmes dopaminergiques

#### 1. Neurones mésencéphaliques

Les différentes régions contenant les corps cellulaires des neurones dopaminergiques sont énumérées ci-dessous dans un ordre suivant l'axe caudo-rostral du cerveau (Figure 3).



**Figure 3: Positions et projections axonales des différents groupes de neurones dopaminergiques sur une coupe cérébrale sagittale de rat adulte.** Au niveau du mésencéphale, le groupe A9 (substance noire, SNc, en rouge) projette au niveau du striatum et du globus pallidus (GP) et le groupe A10 (aire tegmentale ventrale, ATV, en vert) vers le noyau accumbens (N Acc), l'amygdale (Amyg), les tubercules olfactifs (O Tub), et le cortex préfrontal. D'autres connections de neurones dopaminergiques sont établies à partir du groupe A10 au niveau de l'hippocampe et du thalamus. La localisation des groupes diencéphalique A11-A15 et leurs projections descendantes sont représentées en gris. Le groupe A16 est composé d'interneurones dopaminergiques périglomérulaires, et situé dans le bulbe olfactif (tirets jaunes).

Soixante quinze pourcents des neurones dopaminergiques du SNC sont localisés dans le mésencéphale, et sont concentrés dans trois noyaux distincts : la substance noire pars compacta (SNc), l'aire tegmentale ventrale (ATV) et l'aire retrorubrale (RrF). Historiquement, ces groupes de cellules dopaminergiques sont codifiés par A8 (RrF), A9 (SNc) et A10 (ATV) (Dahlström et Fuxe, 1964). En 2004, il avait été dénombré environ 45000 neurones dopaminergiques au niveau de ces trois aires chez le rat, et environ 590000 chez l'homme (Vernier et al. 2004). La dernière estimation stéréologique réalisée chez le rat en dénombre environ 71000 (Nair-Roberts et al. 2008).

Les premières études de visualisation des projections dopaminergiques ascendantes suggèrent l'existence de trois grandes voies issues du mésencéphale (Fallon et Moore 1978 ; Lindvall et Björklund 1974 ; Swanson 1982). Chacune de ces voies dopaminergiques est intégrée dans des fonctions cérébrales spécifiques, de contrôle et/ou de modulation.

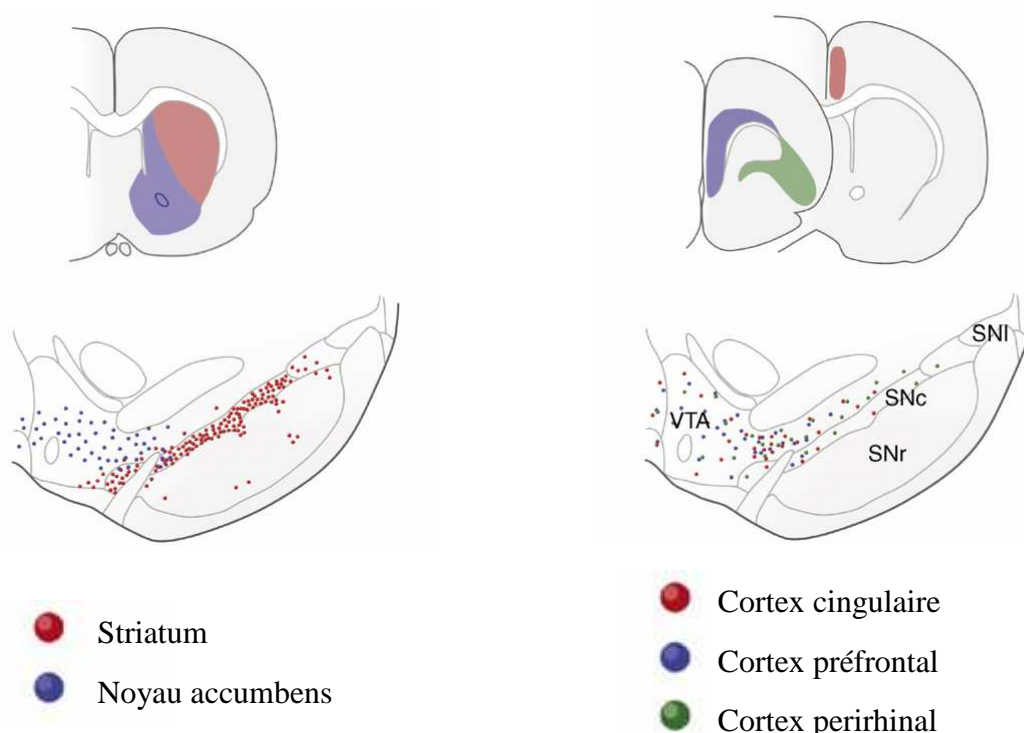
- La voie nigrostriée est composée de neurones de la SNc (groupe A9) projetant dans le striatum dorsal et le caudé putamen. Elle est impliquée très principalement dans le comportement moteur. La lésion unilatérale à la 6-hydroxydopamine (6-OHDA) de la voie nigrostriée fut le premier modèle expérimental utilisé pour caractériser l'intégrité fonctionnelle de cette voie, par quantification du comportement rotatoire induit après administration d'amphétamine ou d'agoniste dopaminergique (Ungerstedt 1976). Un très grand nombre d'études postérieures ont confirmé l'importance de la voie nigrostriée dans le comportement de locomotion. Cependant, des recherches par techniques anatomiques et neurophysiologiques sont toujours en cours pour caractériser l'implication précise des neurones dopaminergiques du striatum dorsal dans la boucle anatomique et fonctionnelle responsable de la motricité, et composée du cortex, du thalamus et des ganglions de la base. Chez l'homme, une dégénérescence de cette voie est caractéristique de la maladie de Parkinson.

- La voie mésolimbique est composée de neurones de l'ATV (A10) et du RrF (A8) qui projettent dans le striatum ventral (noyau accumbens, NAc), l'amygdale et les tubercules olfactifs. Le système mésoaccumbal (système de la voie mésolimbique composé des neurones mésencéphaliques se projetant exclusivement dans le NAc) semble être impliqué dans les processus de motivation, assurant un lien entre le processus affectif, dépendant des aires limbiques comme l'amygdale et la fonction motrice dépendante du striatum dorsal (Mogenson et al. 1980). Ainsi, ces neurones opèreraient dans les phénomènes de motivation, de

subjectivité de la récompense, de cognition prémotrice et dans l'apprentissage de nouveaux comportements (Berridge et Robinson 1998). La dérégulation du fonctionnement de cette voie pourrait être à l'origine des comportements inappropriés retrouvés chez les individus schizophrènes et de la haute distractibilité des personnes atteintes de troubles de l'attention et d'hyperactivité (TDAH).

- La voie mésocorticale est constituée par des neurones issus aussi de l'ATV et formant des connections ascendantes vers le cortex préfrontal (CPF). Il est, encore aujourd'hui, difficile de définir précisément la fonction du système dopaminergique mésocortical du fait des nombreuses interactions de la DA avec d'autres systèmes de neurotransmission présents dans le cortex et du fait de l'importance de cette structure dans l'innervation glutamatergique des aires sous corticales. Le système dopaminergique mésocortical représenterait plus un système de modulation qu'un réel effecteur de réponses comportementales. Il serait impliqué dans la régulation de différentes fonctions cognitives et participerait aux comportements de récompense, de locomotion et de sensibilisation (Tzschenke, 2001).

La description anatomique, schématisée dans la Figure 3, est une description simplifiée et un peu réductrice des voies dopaminergiques issues du mésencéphale. En effet, il est maintenant établi que les neurones de la SNc ne se projettent pas exclusivement dans le striatum dorsal pour former la voie nigrostriée, mais se projettent aussi au niveau des aires limbiques et corticales. De même, les corps cellulaires des neurones dopaminergiques des voies mésolimbiques et mésocorticales sont principalement localisés dans l'ATV mais aussi au niveau du tiers dorsal de la SNc et de l'A8 (Björklund et Dunnett 2007 ; Lammel et al. 2008) (Figure 4). De plus, la conventionnelle dissociation anatomique entre le striatum dorsal (communément appelé striatum) et le ventral (noyau accumbens) commence à devenir désuète. Les récentes études fonctionnelles et comportementales effectuées chez le rat, sont en faveur d'un gradient dorsolateral-ventromedial où les neurones de l'A10 innervent principalement la partie ventromédiale du striatum et ceux de l'A9 une large zone intermédiaire, avec une dominance dorsale. Des corrélats entre fonction sensori-motrice et secteur dorsolatéral, ainsi qu'entre récompense et secteur ventromédial ont déjà été posés (Hollerman et al. 1998 ; Carelli et Deadwyler 1994).



**Figure 4 : Localisation anatomique des corps cellulaires de la voie mésostriatale (nigrostriée), mésoaccumbale (sous partie de la voie mésolimbique) et mésocorticale chez le rat.** Les corps cellulaires des neurones dopaminergiques projetant au niveau du striatum, du noyau accumbens et du cortex peuvent être colocalisés : les cellules situées dans la partie ventrale de la SNc innervent de façon quasi exclusive le striatum, alors que la partie dorsale comprend des neurones se projetant dans les aires striatale, limbique et corticale. SNc, substance noire pars compacta; SNl, substance noire pars lateralis; SNr, substance noire pars reticulata; VTA, aire tegmentale ventrale. Adapté de Björklund et Dunnett 2007.

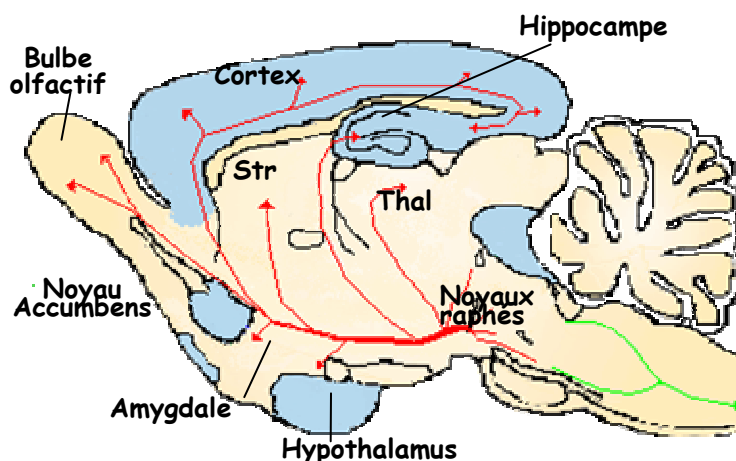
## 2. Neurones diencephaliques et télencéphaliques

Une autre population de neurones dopaminergiques est retrouvée au niveau du diencephale, regroupée en cinq aires A11 à A15 comportant au total environ 1000 cellules. Les plus importants groupes de neurones dopaminergiques se situent au niveau de l'hypothalamus postérieur (A11) et de la zone incerta du thalamus ventral (A13) (Dahlström et Fuxe 1966). Certains auteurs considèrent que le groupe A15 se situe dans le télencéphale. Les neurones du groupe A11 forment des projections descendantes vers le tronc cérébral et la moelle épinière. Les corps cellulaires du groupe A13 projettent au niveau de l'hypothalamus et de l'amygdale, contrairement à ceux du groupe A12 et A14 qui innervent l'éminence médiane de l'hypothalamus et l'hypophyse. Les connections du groupe A15 ne sont pas encore connues. Ces voies dopaminergiques sont impliquées dans les contrôles neuroendocriniens, comme la régulation de la sécrétion de GnRH (gonadotropin-releasing hormone) ou de prolactine (Ben-Jonathan et Hnasko 2001 ; Dahlström et Fuxe 1966).

Finalement, une petite population de neurones dopaminergiques est retrouvée au niveau du télencéphale, plus précisément dans une partie du bulbe olfactif (A16) et de la rétine (A17). Ces neurones présentent des connections très locales puisqu'ils sont caractérisés respectivement comme des interneurons périglomérulaires et amacrine (Figure 3).

## B. Systèmes sérotoninergiques

Les neurones sérotoninergiques font partie de systèmes neuronaux les plus largement distribués dans le cerveau des mammifères. Les corps cellulaires de ces neurones sont retrouvés dans les noyaux du Raphé, situés dans le rhombencéphale (Figure 5). Les projections axonales du noyau du raphé rostral atteignent le cerveau antérieur et intermédiaire, alors que celles des noyaux caudaux descendent dans la moelle épinière (Wallace et Lauder 1983). Au sein du raphé rostral, les neurones du noyau dorsal projettent leurs fibres très majoritairement dans le cortex, alors que ceux du noyau médian se projettent plus principalement vers l'hippocampe, via le cortex cingulaire (Kosofsky et Molliver 1987 ; Rubenstein 1998). Les systèmes sérotoninergiques sont impliqués dans un large spectre de fonctions vitales, comme le cycle veille/sommeil (Adrien et al. 1980 ; Ursin 2002), la thermorégulation (Clark et Clark 1980), la prise alimentaire (Curzon 1990 ; Dourish 1995), la nociception (Eide et Hole 1993), les régulations endocrines (Cowen et al. 1990) et neurovégétatives (Reneman et Van der Starre 1990), les comportements sexuels (Ahlenius et al. 1980). De plus, ses systèmes neuronaux sont très impliqués dans les processus de cognition (Kulz et al. 2007 ; Ogren et al. 2008) et dans le contrôle des émotions et de l'humeur (Thiebot 1986 ; Eison 1990 ; Owens et Nemeroff 1994 ; Neumeister 2003).



**Figure 5 : Projections sérotoninergiques chez le rat.** Les flèches en rouge représentent les projections axonales des voies ascendantes et les vertes, les voies descendantes. Str, striatum ; Thal, thalamus.

### **III. Le méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA)**

#### ***A. Historique et consommation***

Le 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA), communément appelé ecstasy, a été synthétisé pour la première fois en 1912 par l'industrie pharmaceutique allemande, Merck. Le MDMA fut breveté à Darmstadt, en Allemagne, le 16 Mai 1914. Les chercheurs de Merck n'avaient alors pas conscience des effets psychotropes de cette molécule, puisque c'est en tant que vasoconstricteur qu'elle a été commercialisée.

Dans les années 50, le MDMA fut l'une des nombreuses molécules utilisées clandestinement pour les recherches de l'armée américaine. Le projet de la CIA, MK-Ultra portait sur l'investigation de nouvelles techniques de lavage de cerveau, d'espionnage et de contrôle de l'esprit. Le MDMA, nommé EA-1475, fut testé par l'arsenal Edgewood de l'armée américaine à Maryland, sur différentes espèces animales. Il fut utilisé chez l'homme comme sérum de vérité.

La première publication soulignant son activité psychotrope chez l'homme fut éditée en 1978 par Shulgin (Shulgin et Nichols 1978). De manière empirique, certains psychiatres américains l'utilisaient déjà depuis le début des années 70, afin de faciliter les psychothérapies. En 1983, Ralph Metzner invente le terme entactogène pour qualifier les effets spécifiques du MDMA. Pour ces propriétés, rares chez les psychostimulants, le MDMA est indiqué pour le traitement du stress post-traumatique et pour faciliter le transfert avec le psychanalyste. En Allemagne, des thérapies de groupe avec le MDMA ont été initiées en 1985. L'usage thérapeutique de l'ecstasy fut codifié en 1990. Cependant au cours de la même année, son usage fut clairement déconseillé dans les psychothérapies, en raison de "standards scientifiques insuffisants pour la recherche en psychothérapie". (Afssaps, Le point sur l'ecstasy, <http://afssaps.sante.fr/htm/5/5807c.htm>).

C'est à partir des années 80, à la faveur des fêtes "Techno", que l'ecstasy fit sa percée dans le milieu des adolescents et des jeunes adultes. Pendant que la presse à grand tirage vantait ses propriétés aphrodisiaques, l'Organisation Mondiale de la Santé proposait de l'inscrire comme stupéfiant, ce qui entra en vigueur entre 1984 et 1988 selon les pays. L'ecstasy, tout comme diverses amphétamines apparentées, connaît malgré cette mesure un usage croissant dans tous les pays occidentaux. Aujourd'hui, le MDMA n'est plus associé

spécifiquement au mouvement musical techno et à la "rave party", mais est consommé dans d'autres lieux festifs tels que les boîtes de nuit, les bars, etc.

L'ecstasy se présente le plus souvent sous forme de comprimés de couleurs, de formes et de tailles variables, souvent ornés d'un motif (Figure 6). On le trouve aussi en gélule. La dose de MDMA contenue dans un comprimé varie de 1 à 250 mg (Richard et al. Dictionnaire des drogues et des dépendances, Larousse, 2004), mais est généralement comprise entre 80 et 150 mg (Kalant 2001). La composition d'un comprimé présenté comme étant de l'ecstasy est souvent incertaine. La molécule MDMA n'est pas toujours présente et peut être mélangée à d'autres substances : amphétamines, analgésiques, hallucinogènes, anabolisants. L'ecstasy peut également être coupé avec de la caféine, de l'amidon, des détergents, du savon...



**Figure 6 : Pilules d'ecstasy aux couleurs et motifs caractéristiques.**

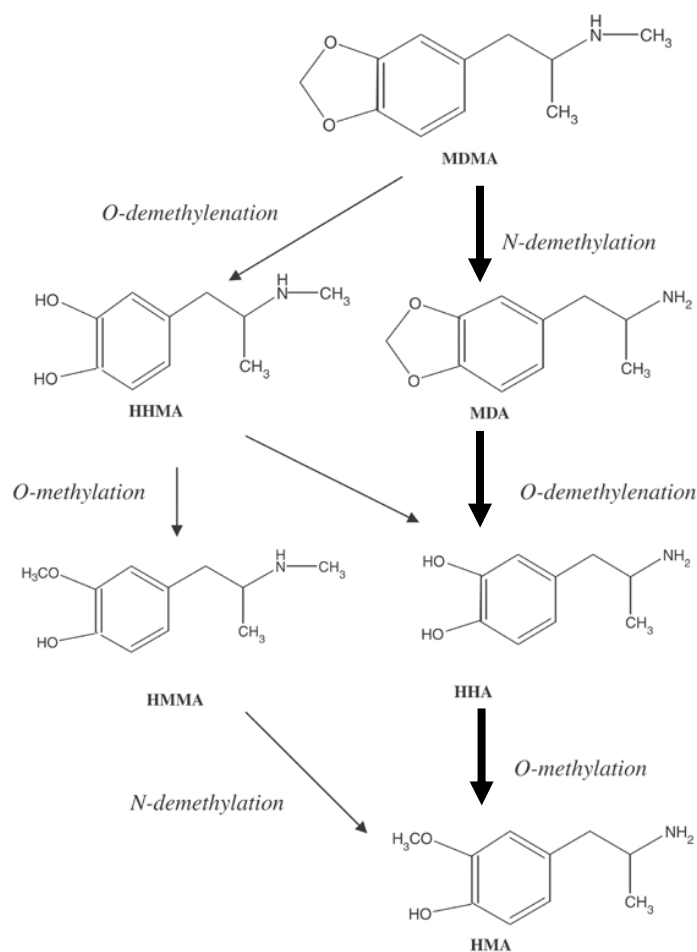
Une étude française publiée en 2006 par l'OFDT (Observation Française des Drogues et des Toxicomanies), estime en France métropolitaine le nombre de consommateurs d'ecstasy sur la population âgée de 12 à 75 ans à 900000, dont seulement 200000 occasionnels, dans l'année 2005. Les niveaux d'expérimentation des substances synthétiques telles que l'ecstasy ou les amphétamines, ont fait plus que doubler entre 1995 et 2005, passant, dans une tranche d'âge de 18 à 44 ans, de 0,7% à 1,6 % chez les femmes et de 1,8% à 3,5% chez les hommes. Aux Etats-Unis, la consommation - au moins occasionnelle -



d'ecstasy est passée de 2,8% à 4,7% entre 1997 et 1999, soit une augmentation de 69% entre ces deux années (Strote 2002). Elle semble se stabiliser puisqu'en 2006, sa consommation est de l'ordre de 4% au sein d'une population de jeunes adultes (Johnston et al. 2007).

## B. Métabolisation et pharmacocinétique

Le MDMA est métabolisé majoritairement au niveau du foie, selon deux grandes voies dont l'implication relative varie en fonction des espèces. De sa métabolisation par les cytochromes, résulte la formation d'au moins 14 métabolites (Lim et Foltz 1988), dont les principaux sont le 3,4-dihydroxyméthamphétamine (HHMA) obtenu après O-déméthylénation et le méthylènedioxyamphétamine (MDA) obtenu après N-déméthylation. Le MDA subit lui aussi une O-déméthylénation pour donner le 3,4-dihydroxyamphétamine (HHA). Le HHMA et le HHA sont métabolisés par une catéchol-O-méthyltransférase (COMT) pour donner respectivement le 4-hydroxy-3-méthoxy-méthamphétamine (HMMA) et le 4-hydroxy-3-méthoxy-amphétamine (HMA) (de la Torre et al. 2000 ; Maurer et al. 2004) (Figure 7).



**Figure 7 : Schéma des deux voies majeures de métabolisation du MDMA**, adapté du postulat de Green et al. 2003. Seuls les plus importants métabolites sont représentés.  
 MDMA: 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine; HHMA : 3,4-dihydroxyméthamphétamine; MDA : 3,4-méthylènedioxyamphétamine; HMMA: 4-hydroxy-3-méthoxy-méthamphétamine ; HHA : 3,4-dihydroxyamphétamine; HMA : 4-hydroxy-3-méthoxyamphétamine.



Différentes études cliniques de pharmacocinétique du MDMA ont été menées sur des sujets volontaires. Après ingestion de différentes doses (50 à 150 mg) de MDMA, les pics de concentration plasmatique ont été retrouvés à environ 2 h (Mas et al. 1999 ; de la Torre et al. 2000). Toutefois, une autre étude a montré que le pic plasmatique se trouvait 4 h après l'ingestion (Fallon et al. 1999). L'analyse des échantillons plasmatiques démontre que le HMMA est la molécule majeure retrouvée dans le plasma après administration de 50, 75 et 100 mg, alors que le MDMA reste le produit retrouvé en plus forte concentration quand il est administré à 125 et 150 mg. La pharmacocinétique du MDMA ne semble donc pas être proportionnelle à la dose administrée (de la Torre et al. 2000). De plus, il a été montré qu'elle était très dépendante de l'énantiomère. Le (+)-MDMA présente une demi-vie plus courte, des concentrations plasmatiques plus faibles et une clairance plus importante par rapport au (-)-MDMA (Fallon et al. 1999). Les taux plasmatiques sont relativement faibles, car le MDMA comme les autres amphétamines présente une faible fixation aux protéines plasmatiques et la majorité du produit (80%) diffuse dans les tissus extravasculaires où il se lie à ses molécules cibles. L'élimination de la drogue de l'organisme est assez lente. Sa demi-vie dans le sang est d'environ 8 h (Mas et al. 1999, Farré et al. 2007). Il faut 5 demi-vies, soit approximativement 40 h, pour que 95 % du MDMA soit éliminé chez l'homme. Ce qui expliquerait les effets persistants de cette drogue un à deux jours après sa prise. De plus, certains des métabolites du MDMA sont pharmacologiquement actifs étant donnée la présence d'effets encore observés alors même que le MDMA n'est plus détecté dans l'organisme.

Chez le rat adulte, la concentration maximale retrouvée dans le plasma se situe environ 90 min après administration de MDMA par voie sous-cutanée. La demi-vie d'élimination est de 1,5-2,5 h après administration de la drogue par voie intraveineuse ou sous-cutanée (Cho et al. 1990 ; Fitzgerald et al. 1990). La pharmacocinétique du MDMA présente les mêmes caractéristiques que pour l'homme à savoir qu'elle n'est pas linéaire en fonction de la dose, et qu'il existe une énantiosélectivité (Fitzgerald et al. 1990).

L'administration de MDMA directement dans le cerveau de rat n'entraîne pas les mêmes modifications neurobiochimiques à long terme que celles retrouvées après administration systémique (Esteban et al. 2001). Il semble donc que le métabolisme périphérique soit nécessaire à la présence d'effets et qu'un ou plusieurs métabolites soient liés aux effets toxiques de la prise de MDMA ; mais l'identification présumée du/des métabolites neuroactifs n'est pas connue.

## **C. Effets aigus du MDMA**

### **1. Libération des monoamines**

L'action du MDMA au niveau du SNC est complexe, du fait de l'existence de différentes molécules cibles. Le MDMA a des effets majeurs sur le système sérotoninergique, mais affecte aussi deux autres voies de neurotransmission importantes : dopaminergique et noradrénergique. Son mécanisme d'action le caractérise comme étant un libérateur : il entraîne une augmentation du taux des monoamines dans le milieu extraneuronal en induisant leur relargage de la terminaison neuronale vers la fente synaptique. Les données présentées dans ce chapitre sur l'action pharmacologique du MDMA sur les différents systèmes de neurotransmission, proviennent majoritairement d'études réalisées chez le rat.

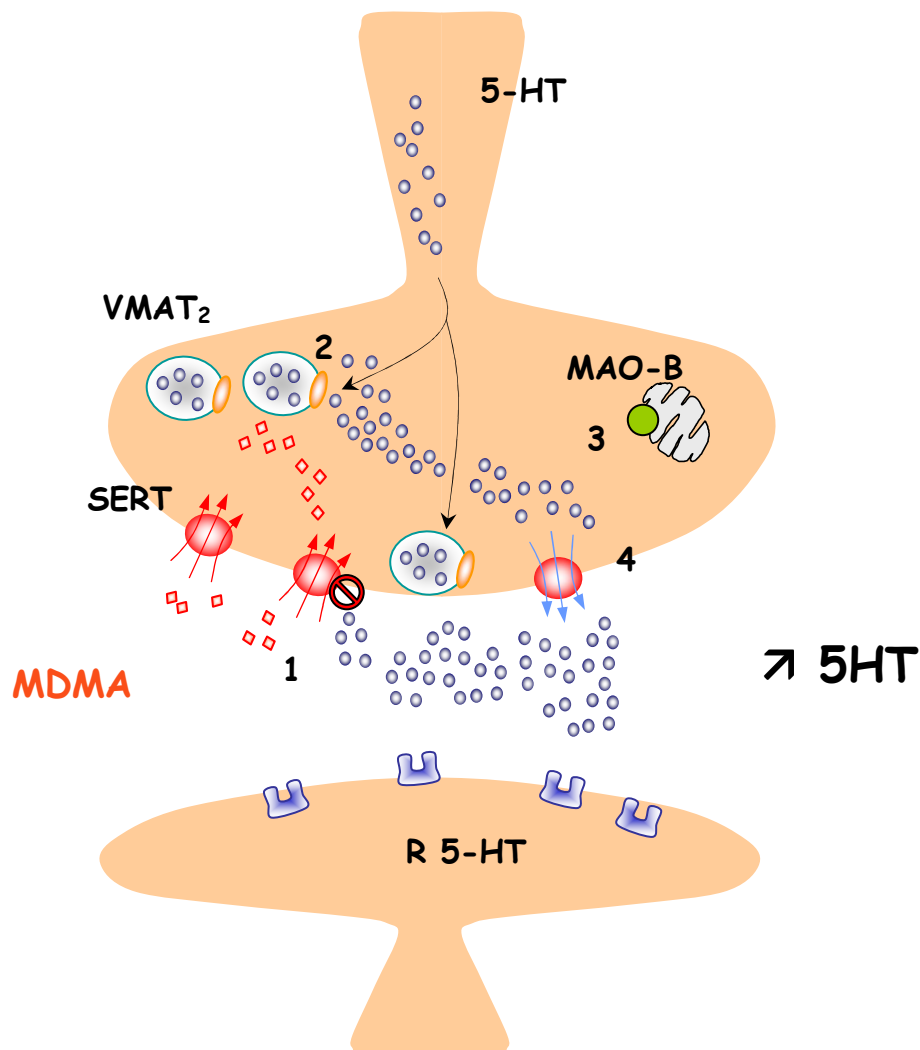
#### **a. Système sérotoninergique**

##### ***\* Libération de la 5-HT***

Le MDMA agit principalement au niveau des terminaisons sérotoninergiques et entraîne une libération massive de 5-HT. Cette augmentation de 5-HT extracellulaire a été démontrée *in vitro* suite à l'ajout de MDMA sur des coupes cérébrales et des préparations synaptosomales (Johnson et al. 1986 ; Schmidt et al. 1987 ; Berger et al. 1992 ; Crespi et al. 1997 ; Koch et Galloway 1997), ainsi que sur des cultures de neurones (Nichols et al. 1982 ; Azmitia et al. 1990 ; Sprouse et al. 1989). Des études réalisées *in vivo* utilisant des techniques de microdialyse confirment ces observations puisqu'elles montrent que l'administration périphérique ou intracérébrale de MDMA entraîne une libération de la 5-HT dans différentes régions du cerveau dont le striatum, l'hippocampe et le cortex préfrontal (Gough et al. 1991, Nash et Brodtkin 1991). Plusieurs mécanismes sont impliqués dans cet effet aigu du MDMA (Figure 8) :

- Son affinité pour le SERT est de 8  $\mu$ M. En se liant sur celui-ci, le MDMA entraîne le blocage de la recapture de la 5-HT. Cette action participe à l'augmentation du taux de 5-HT extracellulaire. Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que cette augmentation de 5-HT dans le milieu extracellulaire, est largement atténuée en présence d'inhibiteurs du SERT, comme la fluoxétine (Hekmatpanah et Peroutka 1990 ; Berger et al. 1992 ; Gu et Azmitia 1993 ; Koch et

Galloway 1997 ; Gudelsky et Nash 1996). De plus, le MDMA est transporté par le SERT dans la terminaison présynaptique du neurone où il agit sur différentes cibles.



**Figure 8 : Mécanismes responsables de l'effet du MDMA sur la libération massive de sérotonine (5-HT).**

1 Blocage de la recapture de la 5-HT par inhibition de son transporteur (SERT) et entrée du MDMA dans la terminaison présynaptique.

2 Action du MDMA sur le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT2) et efflux de 5-HT vésiculaire dans le cytoplasme.

3 Inhibition par le MDMA des MAOs entraînant une diminution de la dégradation de la 5-HT cytoplasmique.

4 Libération massive de 5-HT de la terminaison synaptique vers le milieu extra neuronal via un fonctionnement en mode inverse du SERT.

- Il a été montré que le prétraitement à la réserpine qui entraîne la libération du stock vésiculaire de 5-HT, atténue la libération de 5-HT induite par le MDMA (Gu et Azmitia, 1993 ; Sabol et Seiden 1998). De plus, l'ajout de MDMA sur des synaptosomes striataux de rat entraîne une diminution du transport vésiculaire (Hansen et al. 2002). Ainsi, l'homéostasie de la 5-HT vésiculaire serait modifiée par le MDMA via une action sur le transporteur

vésiculaire VMAT2. En l'inhibant, le MDMA bloque le transport vésiculaire de la 5-HT cytoplasmique et stimule l'efflux de la 5-HT vésiculaire vers le cytoplasme. Cette action serait médiée par une modification du gradient de pH généré par la pompe ATPasique nécessaire au fonctionnement du VMAT2 (Schuldiner et al. 1993). Ainsi via son action sur le VMAT2, le MDMA entraîne une augmentation de la 5-HT dans le cytoplasme.

- Le MDMA interfère aussi avec le métabolisme de la 5-HT en inhibant les MAOs (Leonardi et Azmitia 1994). La diminution de la dégradation intraneuronale de la 5-HT participerait aussi à l'augmentation de 5-HT cytoplasmique.

- Finalement, la 5-HT accumulée dans le cytoplasme est libérée dans la fente synaptique par le SERT, via une inversion de transport induite par le MDMA (Rudnick et Wall 1992).

#### ***\* Déplétion cérébrale de la 5-HT***

A la suite de cette libération de 5-HT dans la fente synaptique, on assiste à une déplétion de la 5-HT cérébrale quelques heures après l'administration de MDMA. Cette déplétion est le résultat de plusieurs mécanismes :

- La libération massive de 5-HT entraîne une forte diminution des stocks vésiculaires de 5-HT.

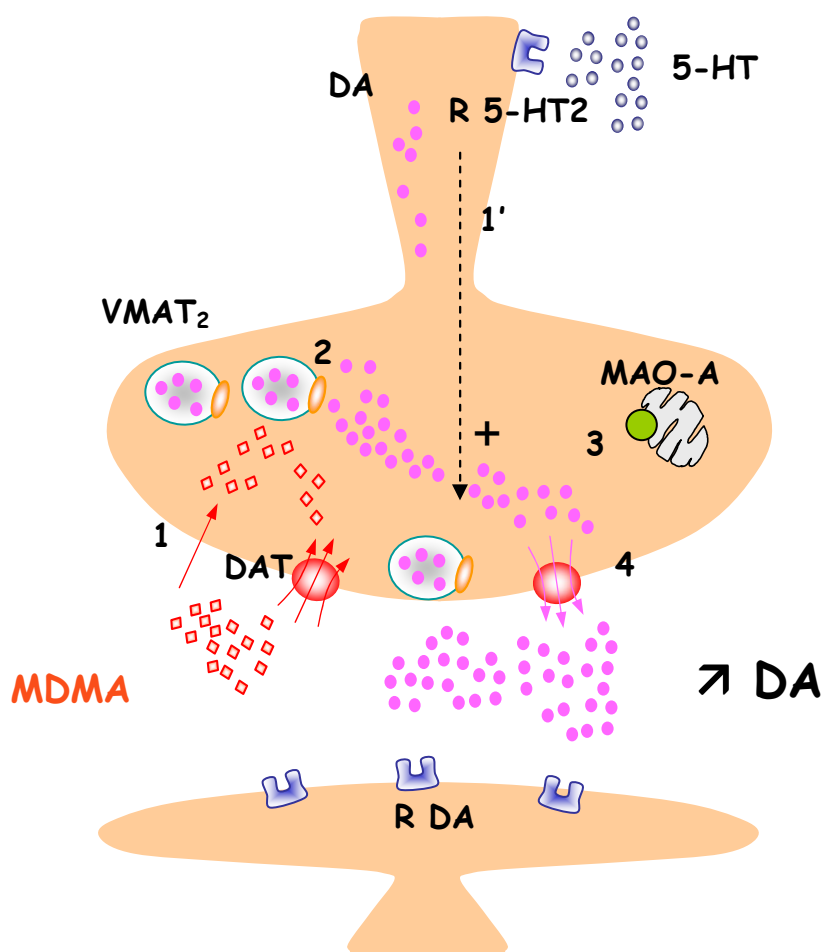
- La fixation de la 5-HT libérée sur ses récepteurs présynaptiques (autorécepteurs) entraîne une inhibition de la décharge des neurones sérotoninergiques des noyaux dorsaux et médians du Raphé (Sprouse et al. 1989).

- L'activité de la tryptophane hydroxylase (TPH), l'enzyme limitante de la synthèse de la 5-HT, est inhibée par le MDMA (Stone et al. 1987 ; Che et al. 1995). Cette inhibition est détectable jusqu'à deux semaines après administration de MDMA (Schmidt et Taylor 1987). Là encore, il existe plusieurs hypothèses sur les mécanismes responsables de l'inhibition de la TPH par le MDMA, qui feraient intervenir des facteurs  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendant (Johnson et al. 1992), un/des métabolites actifs du MDMA (Schmidt et Taylor, 1987), ou la température corporelle (Che et al. 1995).

## **b. Système dopaminergique**

Le MDMA entraîne aussi une augmentation rapide de la libération de DA cérébrale associée à une déplétion extraneuronale de DOPAC et HVA. Cette action du MDMA sur le système dopaminergique a été mise en évidence *in vitro* (Johnson et al. 1986 ; Schmidt 1987 ; Steele et al. 1987) puis par voltamétrie chez l'animal vigile (Yamamoto et Spanos 1988). De nombreuses études de microdialyse intracérébrale ont confirmé ces résultats (Hiramatsu et Cho 1990 ; Gough et al. 1991 ; Nash et Nichols 1991 ; Sabol et Seiden 1998 ; Esteban et al. 2001 ; Gudelsky et al. 1994). Plusieurs hypothèses quant aux mécanismes ont été émises, mettant en évidence des processus dépendants du transporteur de la DA (DAT) et/ou d'un pulse nerveux (Figure 9).

Bien qu'il soit maintenant évident que la libération de 5-HT induite par le MDMA passe par une interaction du MDMA avec le SERT, le rôle du DAT dans le mécanisme de libération de la DA induite par le MDMA, n'est pas encore très clair. Une première étude a montré que l'augmentation de la concentration extracellulaire de DA observée après administration *in situ* de MDMA, via une sonde de microdialyse au niveau du striatum, était diminuée après pré-injection de bloqueurs du DAT, comme le mazindol ou le GRB 12909 (Nash et Brodtkin 1991). Ces résultats ont été confirmés par des études *in vitro* (Koch et Galloway 1997). Cependant, une étude plus récente réalisée sur animal vigile, montre que le prétraitement au GRB 12909 suivi d'une administration périphérique de MDMA entraîne non pas une atténuation mais une plus grande augmentation de la libération de DA (Mechan et al. 2002). L'hypothèse actuelle serait que le MDMA pénètre dans la terminaison présynaptique des neurones dopaminergiques par diffusion passive et via le transport actif du DAT. Le MDMA agirait sur ses molécules cibles pour diminuer le transport vésiculaire et l'activité des MAOs, suivant les mêmes mécanismes d'action que ceux décrits pour les systèmes sérotoninergiques. La DA cytoplasmique concentrée dans la terminaison serait libérée dans la fente synaptique par le DAT via un transport inversé.



**Figure 9 : Hypothèses sur les mécanismes responsables de l'effet du MDMA sur la libération massive de dopamine (DA).**

**1** Entrée du MDMA dans la terminaison présynaptique par un transport passif (diffusion membranaire) ou actif (via le transporteur de la DA, le DAT).

**2** Action du MDMA sur le transporteur vésiculaire des monoamines (VMAT2) et efflux de DA vésiculaire dans le cytoplasme.

**3** Inhibition par le MDMA des MAOs entraînant une diminution de la dégradation de la DA.

**4** Libération massive de la DA de la terminaison synaptique vers le milieu extra neuronal via un fonctionnement en mode inverse du DAT.

**1'** Activation des récepteurs 5-HT<sub>2</sub> qui participe à l'augmentation de la libération de la DA dans la fente synaptique.

La libération de DA cérébrale entraînée par le MDMA pourrait aussi être une conséquence indirecte de la libération massive de 5-HT. L'hypothèse posée est que l'activation des récepteurs 5-HT<sub>2</sub> situés sur les membranes plasmiques des neurones dopaminergiques va entraîner l'apparition d'un influx nerveux qui aura pour conséquence la libération massive de DA, via une voie de signalisation faisant intervenir la protéine kinase C (PKC). Différents résultats expérimentaux étayent cette hypothèse. Le prétraitement à la fluoxétine diminue la libération de DA induite par le MDMA (Gudelsky et Nash 1996). L'implication des récepteurs 5-HT<sub>2</sub> dans le mécanisme d'action devient évidente grâce aux

études qui montrent que l'administration, au niveau du striatum ou de la substance noire, d'un agoniste de ces récepteurs potentialise la libération de DA striatale induite par le MDMA (Gudelsky et al. 1994), et que l'administration d'un antagoniste la supprime (Nash 1990, Schmidt et al. 1994 ; Yamamoto et al. 1995). La PKC est connue pour participer à la signalisation cellulaire des récepteurs 5-HT<sub>2</sub> (Conn et Sanders-Bush 1986). Il a été démontré que l'activation ou l'inhibition pharmacologique de la PKC entraînent respectivement une potentialisation ou une diminution de la libération de la DA induite par le MDMA au niveau du striatum (Nair et Gudelsky 2004).

### **c. Système noradrénergique**

In vitro, l'administration de MDMA induit un relargage de NE dans le milieu extracellulaire, qui peut être bloqué par un inhibiteur du transporteur de la NE, la désipramine (Fitzgerald et Reid 1990). Ces résultats ont été confirmés in vivo (Johnson et al. 1991). Dans des préparations synaptosomales, le MDMA induit un relargage de NE équivalent à celui de la 5-HT et plus important que celui de la DA (Rothman et al. 2001).

### **d. Système cholinergique**

Alors que les effets du MDMA sur les systèmes monoaminergiques sont assez bien décrits, ses effets sur le système cholinergique n'ont été étudiés que récemment. La première étude réalisée in vitro montre que le MDMA augmente la libération d'Acétylcholine (ACh) au niveau striatal (Fischer et al. 2000). L'utilisation de techniques de microdialyse intracérébrale réalisées sur rats vigiles a permis de confirmer ces premiers résultats, puisqu'il a été démontré que l'administration systémique ou in situ du MDMA entraînait une augmentation de l'ACh extracellulaire au niveau du striatum, du CPF et de l'hippocampe (Acquas et al. 2001, Nair et Gudelsky 2005, 2006).

L'action du MDMA sur le système cholinergique serait indirecte et impliquerait les systèmes dopaminergique et sérotoninergique. En effet, la libération d'ACh induite par le MDMA est bloquée par inhibition préalable de la synthèse de DA et de 5-HT (Nair et Gudelsky, 2006), mais aussi par l'administration d'antagonistes des récepteurs

dopaminergiques D1 (RD1) et sérotoninergiques 5-HT<sub>4</sub> (R5-HT<sub>4</sub>) (Nair et Gudelsky, 2005). Le relargage d'ACh induit par le MDMA serait donc la conséquence d'un mécanisme impliquant plus précisément les RD1 et R5-HT<sub>4</sub>.

### **e. Autres systèmes de neurotransmission**

Le MDMA semble avoir aussi une action stimulante sur le système gabaergique (Simantov et Peng, 2004 ; Yamamoto et al. 1995). Enfin, même si le MDMA présente une faible affinité (environ 100µM) pour les récepteurs histaminiques, opioïdes et aux benzodiazépines, la fixation à ces récepteurs serait responsable de certains effets psychotropes de la drogue (Battaglia et al. 1988).

## **2. Effets neurobiochimiques et physiologiques**

### **a. Effets sur l'expression de gènes**

Le gène c-Fos, reconnu comme un marqueur de l'activation neuronale, est activé principalement au niveau du cortex cérébral, striatum, noyau accumbens, amygdale, et noyaux paraventriculaires du thalamus, quelques heures après administration de MDMA chez le rat (Erdtmann-Vourliotis et al. 1999, Stephenson et al. 1999). Au niveau cortical, une analyse par microarray de l'ADNc a été réalisée pour évaluer la réponse transcriptionnelle d'une administration aiguë de MDMA (20 mg/kg, i.p.). Trois grandes informations émergent de cette étude (Thiriet et al. 2002) :

- Le MDMA induit une modification de l'expression de transcrits de protéines du cytosquelette et de la matrice. Ces premiers résultats suggèrent que le MDMA peut entraîner à long terme des modifications de la plasticité neuronale.
- Une augmentation de la transcription de protéines impliquées dans les mécanismes de neurodétotoxication a été rapportée, suggérant la présence des radicaux libres dans le mécanisme de neurotoxicité du MDMA.



- Le MDMA entraîne des modifications transcriptionnelles de gènes codant pour des protéines impliquées dans les cascades de transduction cellulaire, comme les protéines G, les kinases ou encore les phospholipases, mais aussi des facteurs de croissance, comme le NGF.

## **b. Effets sur la thermorégulation**

Il a été dans un premier temps décrit que le MDMA entraînait une augmentation de la température corporelle. Cependant, cette modification a pour caractéristique d'être poikilothermique chez le rat, c'est à dire d'entraîner une modification de la température corporelle en fonction de la température ambiante (Malberg et Seider 1998 ; O'Shea et al. 2006). Le mécanisme par lequel le MDMA entraîne une dérégulation de la réponse thermique n'est pas encore bien établi. Cependant, alors que la température corporelle est dérégulée et varie en fonction de la température de la pièce, la température au niveau de la queue reste stable (Mechan et al. 2002 ; Rusyniak et al. 2008). Il est connu que la vasodilatation ou à l'inverse la vasoconstriction des vaisseaux de la queue sont des mécanismes majeurs pour diminuer ou augmenter respectivement la température corporelle (Grant 1963). Ainsi, le MDMA bloquerait ce processus de régulation. Cette explication est supportée par une étude qui montre qu'à température ambiante identique, un rat hébergé dans une cage en acrylique aura une réponse hyperthermique plus intense qu'un rat hébergé dans une cage au sol grillagé donc plus aérée (Gordon et Fogelson 1994). Le MDMA agirait aussi en inhibant la thermogénèse au niveau du tissu adipeux brun qui est un organe spécialisé dans la dissipation d'énergie sous forme de chaleur (Rusyniak et al. 2008).

Il semble que cette dérégulation thermique fasse intervenir l'activation de certains récepteurs dopaminergiques et sérotoninergiques, dont les rôles sont difficiles à définir. L'hyperthermie serait médiée principalement par la stimulation des récepteurs 5HT<sub>2A</sub> et dans une moindre mesure par les récepteurs RD1 (Mechan et al. 2002 ; Shioda et al. 2008), alors que la réponse hypothermique serait sous la dépendance de l'activation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et D2 (Rusyniak et al. 2008). Mais ces résultats sont controversés car il a été montré que les antagonistes des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> potentialisent l'hyperthermie induite par le MDMA (Saadat et al. 2005). Enfin, il est possible que l'activation de certains récepteurs adrénergiques soit impliquée dans ces variations de température corporelle (Bexis et Docherty 2006).

### **c. Effets sur la neurogénèse et les facteurs neurotrophiques**

Chez le rat adulte, l'expression de BDNF est augmentée de 33-70%, 24 et 48h après injection aigue de MDMA (10mg/kg, i.p.) au niveau du cortex frontal ; à l'inverse, son expression dans l'hippocampe est diminué 48h (-20%) et 7 jours (-73%) après injection (Martinez-Turrillas et al. 2006). Il a aussi été mis en évidence que le MDMA a des effets délétères sur la neurogénèse adulte, en réduisant la survie des neurones nouvellement synthétisés (Hernandez-Rabaza et al. 2006).

## **3. Effets comportementaux**

### **a. Chez l'Homme**

#### ***\* Effets désirés***

Les effets désirés pour lesquels le MDMA est consommé, sont relativement similaires à ceux qui poussent à la prise d'autres amphétamines. Le MDMA produit une augmentation de l'éveil et de l'endurance qui mène à une sensation de forte énergie, une excitation sexuelle (Zemishlany et al. 2001) et une suspension dans le temps de la fatigue et de la somnolence. Les consommateurs déclarent se sentir dans un état d'euphorie, de bien-être, de perception sensorielle très affinée, accompagnée de la sensation de grande sociabilité, d'empathie et d'extraversion (Siegel 1986 ; Peroutka et al. 1988 ; Cohen et al. 1995 ; Sherlock et al. 1999 ; Baylen et Rosenberg 2006). Ces derniers effets définissent le MDMA dans une classe distincte des autres amphétamines. Il est désigné comme une drogue « entactogène », qui « facilite le contact ».

#### ***\* Effets indésirables***

Cependant, le MDMA peut entraîner des effets indésirables. Comme les amphétamines, il agit sur différentes fonctions physiques même avec une dose relativement modéré (Henry 1996). L'augmentation de l'éveil, qui représente un effet désiré, est accompagnée par une augmentation de la tension qui peut se manifester par des tensions musculaires, une mâchoire serrée, un meulage des dents appelé bruxisme, et des mouvements constants et agités des jambes (Siegel 1986 ; Peroutka et al. 1988 ; Vollenweider et al. 1998 ; Sherlock et al. 1999 ; Baylen et Rosenberg 2006). L'activité musculaire, associée à l'action

directe du MDMA au niveau cérébral sur le système de thermorégulation (Olson et Benowitz 1984), entraîne une augmentation de la température corporelle. Dans les 2-3 jours qui suivent la prise de MDMA, courbatures et douleurs dans le bas du dos et dans les membres se font sentir. Migraine, nausée, perte d'appétit, troubles de la vision, insomnie sont des symptômes physiques communément décrits pendant et juste après l'expérience de la drogue. Le MDMA entraîne aussi pendant les premières heures de l'action une élévation du rythme cardiaque et de la pression sanguine qui fluctuent anormalement pendant les jours suivants.

D'un point de vue sensoriel, certains effets psychologiques sont tellement importants qu'ils peuvent être perçus par certains consommateurs comme très désagréables. Par exemple, l'augmentation de la vigilance et de l'excitation, poussée à l'extrême, peut entraîner de l'hyperactivité, des incohérences de pensées, de l'insomnie. De plus, il a été reporté que la prise de MDMA pouvait entraîner des hallucinations et des dépersonnalisations ainsi que des comportements complètement inadaptés (Siegel 1986 ; Peroutka et al. 1988 ; Sherlock et al. 1999 ; Morland 2000 ; Baylen et Rosenberg 2006). Occasionnellement, ces symptômes peuvent entraîner des attaques de panique (McGuire et al. 1994 ; Pallanti et Mazzi 1992), des déliriums (Alciati et al. 1999), et des brefs épisodes psychotiques qui se terminent le plus souvent avec l'action de la drogue (McGuire et al. 1994).

## **b. Chez l'animal**

Le MDMA, comme d'autres amphétamines, augmente l'activité de locomotion chez le rat de façon dose-dépendante (Spanos et Yamamoto 1989 ; Callaway et al. 1990), et diminue l'intérêt de l'animal pour son environnement (McNamara et al. 1995). Cette hyperactivité est consécutive à l'activation sous-jacente des systèmes sérotoninergiques (Spanos et Yamamoto 1989) et dopaminergiques (Gold et al. 1989) de façon interdépendante, mais aussi à l'activation des récepteurs adrénergiques (Bexis et Docherty 2006). Ainsi, il semble que les récepteurs sérotoninergiques 5-HT<sub>2A</sub> et 5-HT<sub>1B</sub> et dopaminergiques D1 et D2 aient un rôle facilitateur dans l'hyperactivité. L'activation des récepteurs 5-HT<sub>1A</sub> et 5-HT<sub>2B/2C</sub> inhiberait cet effet.

Le MDMA a aussi des effets sur le comportement d'anxiété chez le rat. Mais selon le paradigme comportemental utilisé et la dose administrée (Ho et al. 2004), il peut induire tant un effet anxiogène (Morley et McGregor 2000 ; Faria et al. 2006), qu'anxiolytique (Morley et

McGregor 2000). Enfin, il a été montré que l'administration de MDMA chez le rat induit des troubles du comportement alimentaire (Kobeissy et al. 2008).

#### **4. Différences entre les sexes**

Jusqu'à présent, seules trois études cliniques ont été réalisées de façon prospective, avec inclusion des deux genres, pour évaluer les effets aigus et subaigus de l'ecstasy. Globalement, il a été montré que les effets subjectifs, qu'ils soient négatifs ou positifs, comme les expériences sensorielles, les modifications de la perceptions ou l'état d'anxiété, étaient plus intenses chez les femmes que chez les hommes. A l'inverse, l'amplitude de réponse physiologique suite à l'ingestion de MDMA semble être plus importante chez l'homme que chez la femme. En effet, la pression sanguine systolique, la fréquence cardiaque et la température corporelle sont augmentées de façon plus importante chez l'homme. Cela se traduit par la sensation d'être plus actif et dynamique (Liechti et al 2001 ; Verheyden et al. 2002). Cependant, une étude plus récente n'a pas souligné de différences entre les sexes sur le comportement d'agressivité ou d'anxiété (Hoshi et al. 2006).

Chez le rat, des différences dans les réponses comportementales et physiologiques suite à l'administration de MDMA ont été observées entre les mâles et les femelles. Tout comme il a déjà été observé avec la cocaïne et l'amphétamine (Booze et al. 1999 ; Brass et Glick 1981 ; Cailhol et Mormède 1999 ; Camp et Robinson 1988 ; Glick et Hinds 1984 ; Kosten et al. 1993 ; Van Haaren et Meyer 1991), les femelles rats adultes expriment une réponse comportementale plus rapide et intense que celle des mâles, ainsi qu'une sensibilisation plus importante suite à l'exposition chronique (Palenicek et al. 2005 ; Walker et al. 2007).

Les mâles présentent une plus grande vulnérabilité aux effets toxiques et tératogènes du MDMA, puisque la dose toxique létale est plus faible chez les mâles que chez les femelles (Koenig et al. 2005). D'autres études réalisées sur la souris confirment cette susceptibilité plus importante du mâle aux effets létaux entraînés par de fortes doses de MDMA (40 mg/kg et plus) (Cadet et al. 1994 ; Miller et O'Collaghan 1995). Enfin, la réponse thermique au MDMA serait plus prononcée chez les mâles que chez les femelles (Fonsart et al. 2008).

## ***D. Effets à long terme et neurotoxicité***

### **1. Chez l'Homme**

#### **a. Déficits cognitifs**

Différentes études ont révélé des déficits à moyen et long terme (semaine, mois) sur les capacités d'apprentissage et de mémorisation, en particulier au niveau de la mémoire de travail, de la planification, des fonctions exécutives ou du contrôle de l'impulsivité (Gouzoulis-Mayfrank et al. 2003 ; Von Geusau et al. 2004 ; Wareing et al. 2004a et 2004b ; McCardle et al. 2004). Selon ces auteurs, il est donc possible que la prise de MDMA soit un facteur de risque pour l'apparition précoce de troubles de la mémoire dépendants de l'âge. Cependant, bien que ces troubles cognitifs soient avérés sur d'anciens consommateurs d'ecstasy, le lien de cause à effet est loin d'être évident.

#### **b. Potentielle neurotoxicité**

Les premières études d'imagerie fonctionnelle ont montré une diminution de la densité de SERT au niveau cérébral chez d'anciens consommateurs réguliers d'ecstasy, suggérant l'existence de lésions sérotoninergiques (McCann et al. 1998 ; Semple et al. 1999 ; Ricaurte et al. 2000 ; Reneman et al. 2001). L'existence d'une corrélation entre la durée d'abstinence et la diminution du SERT reste cependant controversée au sein de ces différentes études. Leurs méthodologies ont été à posteriori critiquées, tant d'un point de vue technique que sur la prise en compte de la complexité des dossiers des volontaires, remettant en cause l'hypothèse d'une neurotoxicité. De plus, des études plus récentes ont souligné des modifications fonctionnelles du SERT chez des individus consommateurs d'ecstasy (effet court terme), mais n'ont pas trouvé de différence à plus long terme chez d'anciens consommateurs d'ecstasy, comparés à des volontaires sains (Buchert et al. 2004 ; de Win et al. 2004). D'autres études ont montré une réduction de la densité des récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> pendant la période de consommation (effet court terme), et une augmentation de la densité de ces récepteurs en période d'abstinence (Reneman et al. 2000, 2001, 2002).

Il existe peu d'études qui se sont intéressées au système dopaminergique et leurs résultats ne sont pas tranchés. En 1999, l'équipe de Semple a montré par imagerie que la

fixation subcorticale du [ $^{123}\text{I}$ ]  $\beta$ -CIT, qui reflète la densité du DAT, était identique chez les consommateurs d'ecstasy à celle des sujets témoins (Semple et al. 1999). Cependant, avec ce même marqueur, une autre équipe a mis en évidence une augmentation de la densité du DAT chez les consommateurs réguliers d'ecstasy par rapport aux sujets témoins (Reneman et al. 2002).

Des modifications à long terme des systèmes sérotoninergiques, et dans une moindre mesure, des systèmes dopaminergiques, ont été mises en évidence dans certaines études chez l'homme. Cependant, ces résultats étant controversés, il semble nécessaire de multiplier les études dans ce domaine, pour mieux évaluer les conséquences à long terme de la prise d'ecstasy.

### **c. Différences entre les sexes**

Du fait de la présence de différences entre les sexes dans les effets aigus physiologiques et psychologiques de la prise de MDMA, il est concevable que des différences soient aussi présentes dans les modifications à long terme. Les résultats d'études démontrant une neurotoxicité à la suite de consommation d'ecstasy, soulignent aussi un effet du sexe : les femmes présentent des déficits fonctionnels des systèmes sérotoninergiques plus importants que les hommes après une consommation régulière d'ecstasy. Cette différence entre les sexes est caractérisée par une diminution significativement plus importante chez la femme des taux de 5-HIAA et de HVA dans le liquide céphalo-rachidien (McCann et al. 1994), de la densité en SERT qui caractérise une diminution des terminaisons synaptiques (Reneman et al. 2001 ; Buchert et al. 2004), et de la fonction sérotoninergique évaluée par des techniques non invasives (Croft et al. 2001).

## **2. Chez l'animal**

### **a. Altérations sérotoninergiques**

Chez le rat, l'administration répétée de MDMA, par voie orale ou intra-péritonéale, entraîne à long terme des modifications structurelles permanentes ou semi-permanentes des neurones sérotoninergiques, caractérisées par une diminution de la densité de différents

marqueurs (Finnegan et al. 1988). En effet, il a été observé une diminution du taux de 5-HT et de ses métabolites (Commins et al. 1987 ; Molliver et al. 1990 ; Schmidt, 1989 ; Schmidt, 1987), une réduction du nombre de ses transporteurs (Commins et al. 1987 ; Battaglia et al. 1987 ; De Souza et al. 1990), ainsi qu'une diminution de l'activité de la tryptophane hydroxylase (De Souza et al. 1990 ; Molliver et al. 1990). Ces déficits sérotoninergiques sont retrouvés dans différentes régions du mésencéphale et du télencéphale, incluant le cortex frontal, le striatum, l'hippocampe et l'hypothalamus (Battaglia et al. 1987 ; De Souza et al. 1990 ; Slikker et al. 1989). Ils apparaissent une semaine après administration du MDMA et sont encore retrouvés après quelques mois chez le rat, voire même après un an (Battaglia et al. 1988 ; Fischer et al. 1995 ; Lew et al. 1996 ; Sabol et al. 1996 ; Scanzello et al. 1993). Ces résultats sont corroborés par des études immunohistochimiques qui montrent une diminution de marquage des fibres axonales sérotoninergiques au niveau du cortex, du striatum et du thalamus (O'Hearn et al. 1988). Toutes ces données suggèrent donc que le MDMA entraîne à long terme une destruction des terminaisons sérotoninergiques par un mécanisme de neurotoxicité.

## **b. Altérations dopaminergiques**

La majorité des études réalisées chez le rat démontre que le MDMA n'entraîne aucune neurotoxicité du système dopaminergique (Stone et al. 1986 ; Battaglia et al. 1987 ; Schmidt et Kehne, 1990 ; Lew et al. 1996 ; Sabol et al. 1996 ; Colado et al. 1997, 1999). Par contre, il est intéressant de noter que chez la souris, le MDMA présente un profil de neurotoxicité très différent. En effet, l'atteinte des voies dopaminergiques est la principale neurotoxicité induite par le MDMA (Stone et al. 1987 ; Logan et al. 1988 ; O'Callaghan et Miller, 1994). Les effets retrouvés à long terme chez la souris sont caractérisés par une diminution de la concentration cérébrale de DA, de la densité du DAT et de l'activité de la TH (Mann et al. 1997 ; Jayanthi et al. 1999 ; Johnson et al. 2002). Nous ne détaillerons pas plus la neurotoxicité dopaminergique chez la souris puisqu'elle représente un modèle, sur ce point en tout cas, bien différent de celui du rat (Colado et al. 2004).

### **c. Déficits comportementaux**

Les altérations des systèmes sérotoninergiques peuvent avoir des conséquences fonctionnelles. Ainsi plusieurs équipes ont évalué différents processus comportementaux et cognitifs chez le rat exposé au MDMA. La majorité d'entre elles n'ont mis en évidence aucun trouble cognitif associé à un déficit sérotoninergique (Byrne et al. 2000 ; McNamara et al. 1995 ; Ricaurte et al. 1994 ; Robinson et al. 1993). Une étude, cependant, a montré chez des rats préexposés au MDMA 16 jours avant les tests, des déficits mnésiques (Marston et al. 1999). Mais globalement, il semble que les déficits neurobiochimiques des systèmes sérotoninergiques induits par le MDMA n'aient pas ou peu de conséquences sur les fonctions cognitives.

Par contre, de plus en plus de résultats montrent l'existence de troubles persistants de l'anxiété, associés ou non à des modifications sérotoninergiques (Fone et al. 2002 ; Gurtman et al. 2002 ; Morley et al. 2001). Une réduction de la densité des récepteurs 5-HT<sub>2A/2B</sub>, plus encore qu'une diminution du SERT, serait impliquée dans la survenue de ces troubles comportementaux (McGregor et al. 2003 ; Bull et al. 2004).

## ***E. Mécanismes potentiels de la neurotoxicité***

Les causes et les mécanismes du potentiel effet neurotoxique du MDMA chez l'homme sont loin d'être élucidés. Les données exposées dans ce chapitre sont les résultats d'études menées chez le rat. Celles-ci ont permis de dégager quelques pistes et acteurs impliqués dans la neurotoxicité sérotoninergique observée chez le rat. Il semble que le dénominateur commun des différentes hypothèses soit la formation de radicaux libres (Figure 10).

### **1. Rôle des métabolites du MDMA**

Les métabolites du MDMA (Figure 7) génèrent des radicaux libres qui sont associés à des stress oxydatifs et des altérations membranaires. Ils sont donc proposés comme agents responsables de la neurotoxicité, entraînée par la prise de MDMA (Paris et Cunningham 1992 ; Colado et Green 1995). Mais les résultats dans ce domaine sont éparses et il est

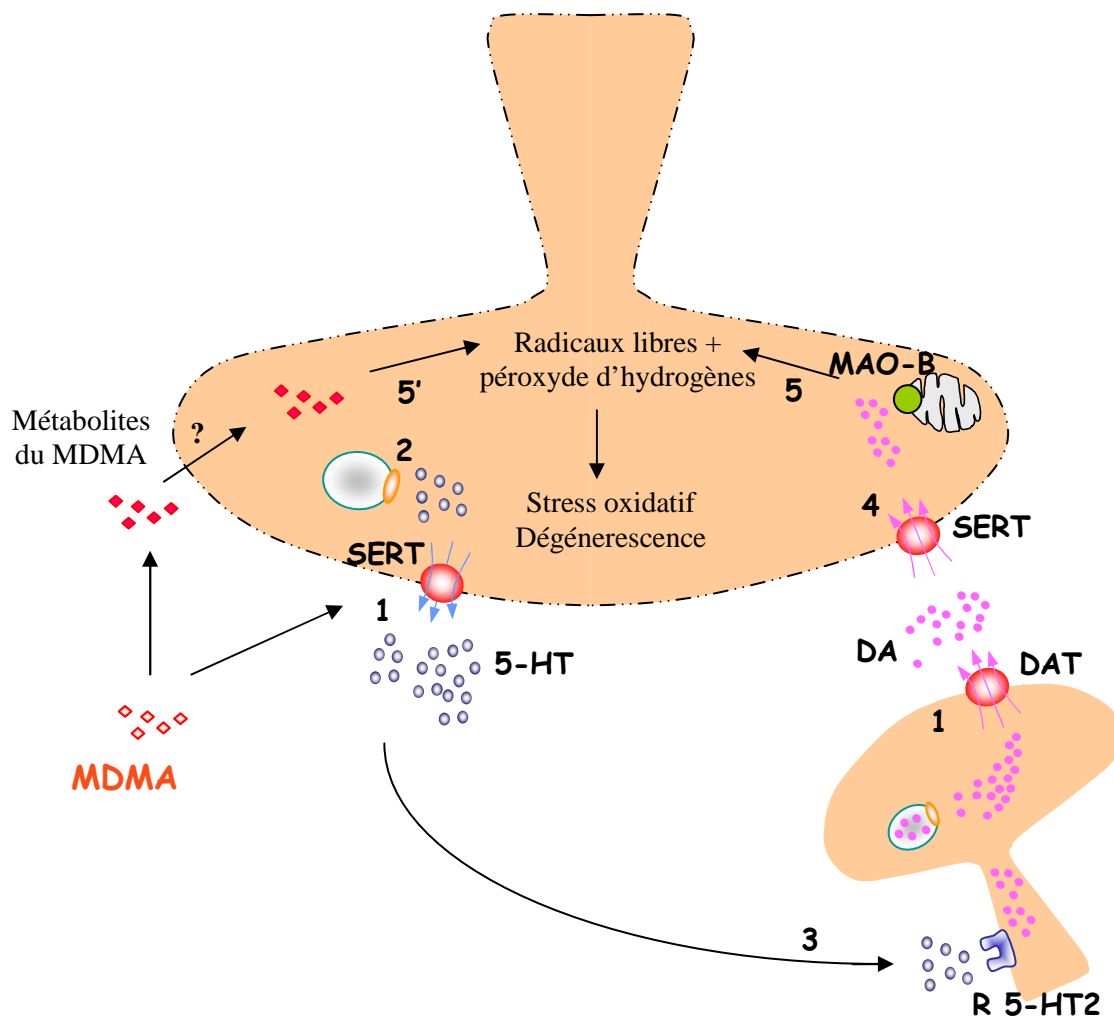


actuellement difficile de conclure sur l'implication de tel ou tel métabolite dans la neurotoxicité.

L' $\alpha$ -MeDA et le HMA, qui sont des métabolites du MDA, peuvent provoquer une diminution de la concentration en 5-HT dans le cortex frontal (Yeh et al. 1991). Cependant, le blocage de la N-déméthylation du MDMA, donc de la formation de l' $\alpha$ -MeDA à partir du MDA, ne prévient pas la réduction de la TPH ni de la 5-HT corticale (Schmidt et Taylor 1987). Cette étape de déméthylation semble juste être un intermédiaire non décisif dans le processus de neurotoxicité (Sprague et al. 1998). De plus, l'administration systémique de HHA et de HHMA chez le rat n'a pas montré de neurotoxicité (McKenna et Peroutka 1990). Par ailleurs, le HHMA est métabolisé en une structure quinone-like. Ce dernier métabolite pourrait être impliqué dans les effets à long terme du MDMA (Hiramatsu et al. 1990). Les radicaux libres seraient formés à partir de l'entrée de cette structure dans des cycles redox causant l'inactivation de la TPH et des dommages au niveau des protéines et lipides des terminaisons neuronales. De plus, les quinones, en présence d'oxygène, peuvent donner des ions superoxydes et du peroxyde d'hydrogène qui pourraient entraîner la peroxydation des lipides et donc endommager, de façon parallèle aux radicaux libres, les terminaisons sérotoninergiques (Colado et Green 1995).

## **2. Rôle de la 5HT et de ses métabolites**

Il a été suggéré que la 5-HT ou ses métabolites pouvaient jouer un rôle dans la neurotoxicité induite par le MDMA chez le rat. Le prétraitement à la fluoxétine (inhibiteur du SERT) inhibant la libération de 5-HT induite par le MDMA, prévient la déplétion de 5-HT à long terme (Schmidt, 1987 ; Sanchez et al. 2001) et facilite la récupération de l'activité de la TPH (Schmidt et Taylor, 1987). De plus, les récepteurs 5-HT<sub>2A</sub> participeraient à cette toxicité, puisqu'il a été démontré que l'administration d'antagonistes de ces récepteurs atténue la neurotoxicité induite par le MDMA (Schmidt et Kehne 1990).



**Figure 10 : Hypothèses sur les mécanismes responsables de la neurotoxicité du MDMA sur les terminaisons sérotoninergique** (d'après Green et al. 2003).

- 1 Libération massive de la sérotonine (5-HT) et de la dopamine (DA), induite par le MDMA.
- 2 Déplétion intraneuronale des stocks de 5-HT.
- 3 Activation des récepteurs postsynaptiques 5-HT<sub>2A</sub> situé au niveau des corps cellulaires des neurones dopaminergiques qui entraîne l'augmentation de la synthèse de DA et potentialise sa libération.
- 4 Transport probable de la DA libérée en excès, dans la terminaison synaptique du neurone sérotoninergique.
- 5 et 5' Métabolisation de la DA et/ou des métabolites du MDMA et formation de radicaux libres.

### 3. Rôle de la DA

Une relation linéaire entre la quantité de DA libérée suite à l'administration de MDMA, et l'intensité des déficits structuraux au niveau des terminaisons sérotoninergiques, a été mise en évidence chez le rat, soulignant l'implication de la DA dans la neurotoxicité sérotoninergique (Nash et Nichols 1991). De plus, la destruction massive des terminaisons dopaminergiques par la 6-hydroxydopamine, bloque la neurotoxicité sérotoninergique chez le

rat (Stone et al. 1988), alors que le prétraitement à la L-DOPA l'augmente (Schmidt et al. 1991). Ainsi, l'hypothèse de l'implication de la DA dans la perte axonale des neurones sérotoninergiques fut proposée (Sprague et al. 1998) et supportée par différentes autres études (Johnson et al. 1986 ; Schmidt et al. 1987 ; Nash et al. 1990). Mais le mécanisme est loin d'être défini.

#### **4. Rôle de l'hyperthermie**

Le degré d'altération cérébrale à long terme produit par le MDMA semble être en relation avec l'amplitude de la réponse hyperthermique. Il existerait une corrélation entre la réponse thermique et le degré de neurotoxicité (Malberg et Seider, 1998). Le maintien de rats à température basse (10°C) avant et/ou après traitement au MDMA, prévient la réponse hyperthermique et atténue, ou même élimine, la neurotoxicité cérébrale (Schmidt et al. 1990 ; Broening et al. 1995). Inversement, quand la température de la salle d'expérimentation est élevée (26-33°C), la réponse hyperthermique ainsi que la neurotoxicité sont augmentées (Broening et al. 1995 ; Sanchez et al. 2004). Cependant, il a déjà été observé une neurotoxicité à long terme sans réponse hyperthermique aiguë, suite à la prise répétée de MDMA (O'Shea et al. 1998). Le rôle exact de l'hyperthermie dans l'apparition d'une réponse neurotoxique est difficile à définir. L'hyperthermie aurait un rôle modulateur important mais non essentiel.

## IV. Le méthylphénidate (MPH)

### *A. Historique et consommation*

Le méthylphénidate (MPH) a été pour la première fois synthétisé en 1944, et utilisé comme analeptique dans les cas d'overdose aux barbituriques (Wax 1997). Il a été breveté en 1954 par la Compagnie Pharmaceutique Ciba et fut prescrit comme traitement dans la dépression et la narcolepsie chronique sous le nom de Ritalin®. C'est au début des années 60, qu'il est utilisé dans le traitement d'enfants atteints de troubles déficitaires de l'attention et d'hyperactivité (TDAH). L'étiologie et les bases neurologiques de cette maladie sont mal connues. Alors que les études moléculaires et génétiques montrent que les TDAH sont d'origine héréditaire, d'autres études soulignent l'existence de facteurs de risque environnementaux, comme les complications obstétriques et les contextes psychosociaux difficiles, prédisposant l'apparition de cette maladie. Les résultats d'études cliniques et pré cliniques ont révélé une dérégulation des circuits catécholaminergiques fronto-sous-corticaux dans la pathophysiologie des TDAH. Les études d'imagerie moléculaire montrent que les troubles de la neurotransmission se traduisent notamment par des anomalies du DAT (Biederman et Faraone 2005).

Dans les années 70, la presse populaire attaque les effets de la Ritalin® et dénonce l'usage de ce produit comme étant un outil pour contrôler l'esprit des enfants. Lentement, les apports bénéfiques du MPH dans le traitement des TDAH sont acceptés. Actuellement, plus de 8% des jeunes américains âgés entre 4 et 17 ans sont diagnostiqués TDAH, et approximativement la moitié est traitée avec un stimulant du système nerveux central (amphétamine ou MPH) (Mayes et al. 2008). Les doses prescrites de MPH se situent entre 0,3 et 1 mg/kg/j en administration orale (Greenhill et al. 1992).

Parallèlement à la très forte augmentation des prescriptions de Ritalin®, la consommation illicite de MPH chez les jeunes a augmenté (Kollins et al. 2001). Par exemple, des études soulignent que jusqu'à 16% des étudiants dans les collèges américains consomment du MPH pour augmenter leur attention pendant les cours (Babcock et Byrne 2000 ; White et al, 2006). Ces jeunes s'administrent la drogue sous forme de cachet ou pilule ou en intranasal pour la recherche d'un effet récréatif ; des cas d'administration en intraveineuse ont aussi été rapportés (Parran et Jasinski 1991). La dépendance entraînée par la consommation répétée du MPH par voie orale est rare. Elle est observée généralement dans le

cadre d'administration intranasale ou intraveineuse (Parran et Jasinski 1991). Dans ce cadre de consommation abusive, les doses sont mal connues, mais des rapports d'expériences sur des supports non scientifiques (<http://www.erowid.org/pharms/methylphenidate/>) décrivent des prises uniques ou répétées sur quelques heures de MPH à des doses comprises entre 20 et 150 mg. Ainsi, à la consommation du MPH thérapeutique s'ajoute l'usage illicite qui représenterait plus de 5% des consommations totales de Ritalin® (Dupont et al. 2008).

## B. Métabolisation et pharmacocinétique

Le MPH est un dérivé pipéridinique qui possède deux centres de chiralité. De ce fait, quatre énantiomères de cette molécule existent (Figure 11). Les premières préparations de MPH contenaient les quatre énantiomères. Cependant, il a vite été mis en évidence que les formes erythro n'entraînaient pas d'effet stimulant sur le cerveau. Dès lors, les préparations de MPH n'ont contenu qu'un mélange racémique de l- et d-thréo-MPH. Aujourd'hui, il existe un nombre important de résultats qui suggèrent que le d-thréo-MPH est l'isomère pharmacologiquement le plus actif (Patrick et al. 1987 ; Srinivas et al. 1992 ; Aoyama et al. 1996 ; Ding et al. 1997 ; Quinn 2008).

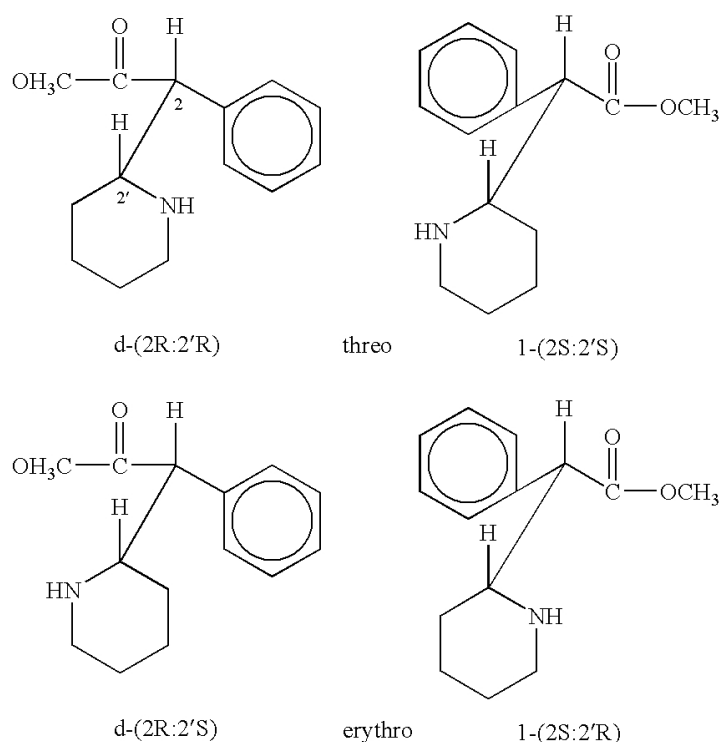


Figure 11 : Structure des quatre énantiomères du méthylphénidate.

Chez l'homme, après administration orale, le MPH est totalement absorbé entre l'intestin et le colon. Son pic plasmatique est retrouvé entre 1 et 3 heures après ingestion, et sa demi-vie plasmatique est comprise entre 1,5 et 2,5 heures (Patrick et al. 1981 ; Redalieu et al. 1982, Wargin et al. 1983). L'absorption semble être augmentée quand le MPH est ingéré en même temps que de la nourriture (Chan et al. 1983). Il est métabolisé au niveau du foie par de-estérification en un métabolite inactif, l'acide ritalinique. Cette réaction limite la biodisponibilité du MPH de 11 à 53% (Chan et al. 1983) et les concentrations plasmatiques de l'acide ritalinique excèdent largement celles du MPH. Le métabolisme des énantiomères thréo-MPH est stéréosélectif (Srinivas et al. 1993). L'élimination urinaire de l'acide ritalinique représente 60 à 80 % de la dose.

Des études utilisant la tomographie par émission de positron (TEP) ont évalué sur la pharmacocinétique du MPH marqué au carbone-11 ( $[^{11}\text{C}]$ -MPH) au niveau cérébral (Volkow et al. 1995). Après administration intraveineuse, environ 7,5% du  $[^{11}\text{C}]$ -MPH est retrouvé au niveau du cerveau, avec un pic de concentration présent après 4 à 10 minutes. La pharmacocinétique par prise orale est plus lente, puisque le pic cérébral n'est atteint qu'au bout d'une heure après administration (Volkow et al. 1995). La distribution du MPH dans le cerveau est hétérogène. Le MPH est très majoritairement retrouvé au niveau du striatum, et aussi, mais dans une moindre mesure, au niveau du thalamus, du cortex et du cervelet.

## ***C. Effets aigus du MPH***

### **1. Augmentation des catécholamines dans la fente synaptique**

Le mécanisme par lequel le MPH exerce ses effets comportementaux n'est pas tout à fait élucidé. Le MPH est très affiné pour les transporteurs dopaminergiques (DAT) et noradrénergiques (NET). Son IC<sub>50</sub> pour ces deux transporteurs est respectivement de 84 nM et 514 nM (Schweri et al. 1985 ; Gatley et al. 1996). Contrairement à l'amphétamine, la cocaïne ou le MDMA, ce psychostimulant présente une très faible affinité ( $> 50 \mu\text{M}$ ) pour le transporteur de la 5-HT (Gatley et al. 1996).

Le MPH fait partie de la classe des inhibiteurs de la recapture, tout comme la cocaïne. Ces deux psychostimulants ont en commun leur site de liaison au DAT (Wayment et al. 1999)

et présentent des mécanismes d'action sur le système dopaminergique très similaires. Le MPH se lie au DAT, mais n'est pas un substrat de ce transporteur. Il inhibe le transport de la DA en bloquant le DAT. Ainsi, ce blocage entraîne une accumulation de la DA dans le milieu extracellulaire. Le mécanisme d'action sur le NET est similaire à celui sur le DAT.

Les résultats d'études de microdialyse intracérébrale réalisées sur rat vigile confirment ceux des études *in vitro*. Il a en effet été montré que l'administration intrapéritonéale de MPH augmentait le taux de DA extracellulaire au niveau du striatum dorsal, du noyau accumbens et du cortex préfrontal (Kuczenski et Segal, 1997 ; Gerasimov et al. 2000 ; Kuczenski et Segal, 2001 ; Berridge et al. 2006). Le MPH augmente aussi la libération de NE dans le milieu extracellulaire, au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Kuczenski et Segal, 2001 ; Berridge et al. 2006), avec une ampleur comparable à celle de la libération de DA dans le striatum. Toujours en accord avec les résultats *in vitro*, aucune augmentation de 5-HT extracellulaire n'a été mise en évidence dans différentes structures cérébrales (Wall et al. 1995 ; Gatley et al. 1996 ; Kuczenski et Segal, 1997 ; Kankaanpää et al. 2002 ; Segal et Kuczenski, 1999).

## **2. Effets neurobiochimiques**

### **a. Redistribution des vésicules de stockage dans la terminaison synaptique**

Au niveau des systèmes dopaminergiques, l'administration du MPH modifie la localisation sub-cellulaire des vésicules synaptiques exprimant les VMAT2 (Riddle et al. 2002 ; Sandoval et al. 2002). Bien que les détails de ce mécanisme soient loin d'être déterminés, il semblerait que l'augmentation extracellulaire de la DA induite par le blocage du DAT entraîne une redistribution des vésicules de stockage du compartiment proche de la membrane plasmique, appelé zone active, vers un compartiment plus cytoplasmique. Cette action serait médiée par l'activation des récepteurs D1 et D2, puisque l'administration de leurs agonistes respectifs bloque les effets du MPH à ce niveau (Sandoval et al. 2002). De plus, l'activation des récepteurs D2 par un agoniste entraîne une redistribution des vésicules similaire à celle induite par le MPH (Sandoval et al. 2002 ; Truong et al. 2004). Cependant, les conséquences fonctionnelles d'une telle redistribution restent peu connues. L'hypothèse

proposée est que cette redistribution des vésicules entraîne une altération de la disponibilité de la DA dans les terminaisons synaptiques (Sandoval et al. 2003).

## **b. Régulation de l'expression de molécules impliquées dans la signalisation neuronale**

De récentes études ont démontré qu'au niveau du striatum l'administration aiguë de MPH augmentait le taux de transcription et de traduction de facteurs de transcription, comme le gène c-fos chez le rat (Yano et Steiner 2005a ; Brandon et Steiner 2003) et la souris (Penner et al. 2002) ou, comme le zif269 (Yano et Steiner 2005b ; Brandon et Steiner 2003) et le fosB (Chase et al. 2005). De la même manière qu'avec la cocaïne, ces activations génomiques seraient médiées par les récepteurs striataux RD1 (Yano et al. 2006). Bien que la plupart des études se soit focalisée sur le striatum, l'augmentation de l'expression de ces facteurs a aussi été montrée dans le cortex (Yano et Steiner 2005a ; Lin et al. 1996 ; Chase et al. 2005) et dans une moindre mesure dans le noyau accumbens (Yano et Steiner 2005b ; Chase et al. 2005). Ces changements moléculaires peuvent survenir à partir d'une seule et faible dose de MPH (2 mg/kg).

Les terminaisons des neurones striataux expriment et libèrent plusieurs neuropeptides qui agissent comme des neurotransmetteurs. Ils sont libérés par l'activation de récepteurs dopaminergiques, et indirectement par les psychostimulants (Steiner et Gerfen 1998). Une administration aiguë de MPH entraîne une augmentation de l'expression de la substance P et plus modestement de la dinorphine. L'expression des enképhalines ne semble pas être altérée par le MPH, ce qui le dissocie de la cocaïne (Yano et Steiner 2005b).

Le MPH semble aussi avoir une action sur l'expression de molécules impliquées dans la signalisation cellulaire. Par exemple au niveau du CPF, il a été observé une augmentation de la phosphorylation des récepteurs glutamatergiques suite à l'administration aiguë de MPH chez le rat (Pascoli et al. 2005). Des modifications de la phosphorylation de la protéine inhibitrice de la phosphatase (DARPP-32) sont aussi retrouvées au niveau du striatum (Fukui et al. 2003).



### **3. Effets comportementaux**

#### **a. Chez l'Homme**

##### ***\* Effets désirés***

Chez les individus diagnostiqués TDAH, la prise de MPH entraîne une diminution des déficits attentionnels, en augmentant le temps de réflexion, la motivation, la persévérance, le sens de l'organisation et la capacité d'anticipation. Le MPH améliore aussi les symptômes d'hyperactivité, en augmentant le seuil de frustration, et en diminuant l'impulsivité, l'agitation et l'agressivité. L'administration orale de doses cliniques de MPH améliore la mémoire de travail spatiale, le contrôle inhibiteur, la flexibilité, et d'autres fonctions cognitives, toutes dépendantes du cortex préfrontal (Trommer et al. 1991 ; Bedard et al. 2003 ; Aron et al. 2003 ; Mehta et al. 2004 ; Turner et al. 2005). En 2005, plus de 200 essais cliniques ont confirmé cette efficacité (Fone et Nutt 2005). Chez les individus non TDAH consommant du MPH dans un cadre illicite, le MPH entraîne une augmentation de l'attention et des performances, d'autant plus importante dans des conditions physiologiques altérées, comme le manque de sommeil (Volkow et al. 2008).

##### ***\* Effets indésirables***

Malgré l'amélioration de la formulation du MPH, il reste un certains nombres d'effets indésirables : perte d'appétit, insomnie, vertiges, somnolence, maux de tête et plus occasionnellement la survenue de tics moteurs. De plus, il est observé une reprise assez immédiate des symptômes après l'arrêt de la prise de la molécule.

##### ***\* Différences entre les sexes***

Très peu d'études sont disponibles concernant un possible dimorphisme sexuel quant à la réponse comportementale au MPH, même s'il a été récemment très clairement établi que les connaissances des différences de réponses sexe-dépendantes induites par le MPH devenaient un très grand enjeu pour adapter les traitements (Dafny et Yang 2006). Dans une étude prospective, les femmes ont rapporté des effets subjectifs plus intenses que ceux rapportés par les hommes, à la suite de la consommation de MPH (Patrick et al. 2007). Une autre étude menée chez les adolescents diagnostiqués TDAH, a montré que les jeunes filles

présentaient une réponse comportementale supérieure à celle des garçons dans les 90 min suivant l'ingestion de MPH, et inférieure après 12 heures (Sonuga-Barke et al. 2007).

## **b. Chez l'animal**

A faible dose (2-5 mg/kg), l'administration de MPH au stade adulte stimule l'activité de locomotion chez le rat et le singe. Avec des doses plus élevées (10 et 20 mg/kg), apparaissent des stéréotypies (Gaytan et al. 1996, 2000 ; Kollins et al. 2001 ; Solanto, 1998). Le MPH entraîne aussi une augmentation des performances cognitives, comme l'attention, et la mémoire de travail chez le rat adulte (Navarra et al. 2008 ; Bizarro et al. 2004).

L'activation des récepteurs postsynaptiques dopaminergiques et noradrénergiques semble être directement impliquée dans les effets cognitifs, puisque l'administration d'un antagoniste des récepteurs D1 ou d'un antagoniste des récepteurs noradrénergique  $\alpha 2$  (l'idazoxan) inhibe l'augmentation des performances cognitives induites par le MPH (Arnsten et Dudley 2005).

Même si le système sérotoninergique n'est pas une cible directe du MPH, il serait impliqué dans ses effets. Ce n'est que récemment que les études pharmacologiques ont mis en évidence un rôle des récepteurs et transporteurs de la 5-HT. Un prétraitement avec un agoniste des récepteurs 5-HT<sub>1B</sub> (le CP 94253) ou avec un inhibiteur de la recapture de la 5-HT (la fluoxétine) potentialise l'hyperactivité induite par le MPH (Borycz et al. 2008). Par contre, l'administration d'un antagoniste des récepteurs 5-HT<sub>3</sub> n'atténue pas les effets comportementaux induits par le MPH (Kankaanpää et al. 2002). Le SERT et le récepteur 5-HT<sub>1B</sub> sembleraient donc impliqués dans la modulation de la réponse comportementale induite par le MPH, mais le mécanisme précis n'est pas connu.

L'administration de MPH chez les femelles rats adultes et adolescentes entraîne une plus grande hyperactivité que les mâles (Wooters et al. 2006 ; Torres-Reveron et Dow-Edwards 2005 ; Dow-Edwards et al. 2008). Très récemment, il a été montré que les femelles présentaient par rapport aux mâles un comportement d'anxiété inférieur, et une augmentation de la consommation d'alcool et de saccharose, qui n'est pas retrouvée chez les mâles

(Vendruscolo et al. 2008). Par contre, sur les performances mnésiques, le MPH semble entraîner des conséquences identiques chez les deux sexes, comme le montre les résultats de modèles d'exposition au MPH en période pré-adolescente et adulte (Zhu et al. 2007 ; Chuhan et Taukulis 2006 ; Dow-Edwards et al. 2008). Mais en terme de vulnérabilité neurobiochimique, aucune donnée liée aux effets du sexe n'est à ce jour disponible chez le rongeur.

### ***D. Effets à long terme : une drogue potentiellement toxicomanogène ?***

Bien que l'effet aigu du MPH soit relativement connu chez l'homme et l'animal, peu d'études sont actuellement disponibles sur les effets à long terme, qu'ils soient néfastes ou bénéfiques.

#### **1. Chez l'Homme**

Une préoccupation majeure de l'usage répétée de MPH à titre thérapeutique, est de prédire si cet usage n'augmente pas le risque de transformer par la suite cette consommation en toxicomanie. L'administration de MPH par voie orale, comparée à la voie intraveineuse ou intramusculaire, semble limiter ce risque, puisque la biodisponibilité de la molécule reste très faible. De plus, le faible taux d'entrée de MPH au niveau cérébral à la suite de la prise orale, n'entraîne pas le blocage de tous les DAT (Gerasimov et al. 2000). Enfin, les nouvelles formulations de MPH permettent de réguler plus finement l'augmentation des catécholamines tout au long de la journée, et de diminuer ainsi les effets aigus. Ainsi, la majorité des études cliniques ont montré que les sujets traités au MPH n'étaient pas plus enclins à l'auto-administration de MPH que les sujets ayant reçus des placebos (Kollins et al. 2001). Ces observations sont en accord avec le fait qu'il existe un très faible taux de personnes TDAH traitées aux psychostimulants, consommant des drogues d'abus (Wilens et al. 2002).

Il est important de noter que dans un cadre illégal, la quantité de MPH consommée est plus importante. De plus, les capsules de MPH sont ouvertes et le contenu peut être consommé par voie intranasale ou intraveineuse. Cette forme de consommation entraîne une entrée de la molécule beaucoup plus rapide et forte dans le cerveau, par rapport à la prise per os. Les conséquences de ce type de consommation abusive pourraient donc être différentes de

celles pouvant être observées dans le cadre thérapeutique. Les effets à long terme de ce type de consommation abusive ne sont pas étudiés chez l'homme adulte.

## **2. Chez l'animal**

### **a. Effets comportementaux à long terme**

Dans les modèles animaux, le MPH induit des changements comportementaux proches de ceux inférés par d'autres psychostimulants comme la cocaïne ou l'amphétamine (Carlezon et Konradi 2004 ; Kollins et al. 2001 ; Kuczenski et Segal 2005). Par exemple, une sensibilisation comportementale au MPH est retrouvée chez le rat. Celle-ci définit l'accroissement progressif des effets comportementaux de la drogue avec la répétition de la consommation de la drogue. Suite au traitement répété de MPH pendant 5 jours consécutifs (15 mg/kg/j par voie intrapéritonéale), on assiste à une potentialisation de l'activité de locomotion (Crawford et al. 1998). Cette sensibilisation comportementale est aussi retrouvée avec des doses plus faibles de MPH, à savoir 1 mg/kg deux fois par jour pendant 5 ou 11 jours (Kuczenski et Segal 2001). De plus, l'administration répétée de MPH facilite l'auto administration de psychostimulants. Par exemple, les rats adultes traités au MPH (20 mg/kg, pendant 7 jours), montrent une augmentation de l'auto administration de cocaïne par rapport aux rats témoins (Schenk et Izenwasser 2002). Cependant, à une dose plus faible, ce comportement ne diffère pas de celui des témoins. Le MPH induit des modifications de la préférence de place, dans un paradigme de conditionnement de lieu. Le rat passe plus de temps dans un environnement dans lequel il a déjà fait l'expérience du MPH (Meririnne et al. 2001). L'ensemble de ces études suggère que l'exposition au MPH induit chez le rat adulte une sensibilisation du comportement de récompense et donc une prédisposition à l'addiction.

### **b. Effets neurobiochimiques à long terme**

L'administration répétée de MPH entraîne de nombreux changements neuroadaptatifs, impliquant une dérégulation de l'expression de certains gènes. Dans le striatum, l'induction de l'expression de nombreux facteurs de transcription est diminuée après un traitement répété au MPH, alors qu'elle est augmentée à la suite d'une prise unique (Yano et Steiner 2007). A

l'inverse, on assiste à une potentialisation de l'induction de l'expression de certains facteurs de transcription au niveau du noyau accumbens (Cotterly et al. 2007 ; Brandon et Steiner 2003) et du cortex (Brandon et Steiner 2003).

L'induction par administration aiguë de MPH de l'expression de la substance P est réduite après un traitement chronique, ces changements étant similaires à ceux retrouvés avec la cocaïne et l'amphétamine. Par contre, les changements de l'expression des peptides opioïdes, la dinorphine et l'enképhaline, sont modestes ou absents à la suite d'exposition chronique au MPH (Brandon et Steiner 2003).

Le traitement répété au MPH chez le rat entraîne à long terme des modifications neurobiochimiques des protéines de la signalisation cellulaire et de la neurotransmission, caractérisées par une réduction de la densité du DAT (Izenwasser et al. 1999), ainsi que de l'activité de la protéine kinase A et de l'adénylate cyclase, au niveau du striatum (Crawford et al. 1998). Une augmentation de la densité de récepteurs glutamatergiques GluR<sub>2/3</sub>, est aussi observable 3 semaines après l'arrêt d'un traitement répété au MPH (2 mg/kg) au niveau du NAc (Andersen et al. 2002).

Toutes ces études menées chez l'animal adulte démontrent que le MPH administré de façon chronique entraîne à long terme des altérations neurobiochimiques mais aussi comportementales. Le MPH entraînerait des prédispositions à la dépendance, tout du moins chez le rat. Ces études suggèrent donc que l'exposition au MPH pourrait augmenter le risque d'abus de substances psychotropes chez l'homme, même si cette hypothèse n'est actuellement pas supportée par les études cliniques.

## **PARTIE 2 : EXPOSITION DU CERVEAU EN DEVELOPPEMENT AU MDMA OU AU MPH**

---

Le cerveau en développement présente des caractéristiques bien distinctes d'un cerveau adulte, qui le rendent particulièrement sensible aux effets d'agents neuroactifs. Comprendre les mécanismes de la vulnérabilité du système nerveux central immature à différents xénobiotiques est important dans des perspectives de prévention, mais aussi pour la compréhension de la maturation des circuits neuronaux. Dans le premier chapitre de cette partie, sont synthétiquement décrits les grands processus du développement cérébral chez l'homme et le rat, puis avec plus de détails le développement normal des systèmes dopaminergiques et sérotoninergiques, ainsi que leur vulnérabilité aux psychostimulants. Enfin, l'ensemble des données cliniques et pré cliniques actuelles sur les conséquences à court et long terme d'une exposition au MDMA ou au MPH au cours du développement est regroupé dans les deux chapitres suivants.

### **I. Développement cérébral**

#### ***A. Etapes du développement cérébral chez l'Homme***

La neurogénèse embryonnaire est organisée en trois étapes successives : la prolifération cellulaire dans les zones germinatives, la migration neuronale et la différenciation cellulaire.

##### **1. Production des précurseurs neuronaux**

L'induction neurale permet, dès la 5<sup>ème</sup> semaine embryonnaire, la transformation du feuillet primitif (ectoderme) en neuroectoderme. Celui-ci contient des cellules souches et des cellules précurseurs neuronaux et gliaux. A partir de la 5<sup>ème</sup> semaine, ces cellules progénitrices rentrent dans une phase d'intense multiplication. Après un certain nombre de divisions, les précurseurs neuronaux perdent leur capacité mitotique et deviennent des neurones embryonnaires prêts à migrer (Caviness et Takahashi 1995).

## **2. Croissance et migration neuronale**

La notion de migration neuronale a été évoquée il y a plus d'un siècle mais réellement étudiée à partir des années 60 (Angevine et Sidman 1961). Les neurones embryonnaires migrent de la zone germinative vers leurs futurs sites de fonctionnement, qui sont le cortex et les noyaux ou ganglions (formation en agrégats). Ils se distribuent selon un gradient interne-externe : les premiers neurones formés migrent dans les couches profondes, et les suivants occupent successivement les couches plus superficielles (Rakic 1988).

## **3. Neuritogénèse et synaptogénèse**

La différenciation des neurones commence dès leur migration selon le même gradient interne-externe. La pousse des fibres nerveuses, les neurites (axones et dendrites), marque le début de la différenciation des neurones matures. Les neurites s'allongent par leur extrémité qui cherche les cellules cibles pour établir un contact avec elles, et se transformer en terminaison synaptique. Ce phénomène perdure aussi après la naissance chez l'Homme (Huttenlocher 1990).

## **4. Mort cellulaire programmée**

La mort cellulaire programmée est reconnue comme l'un des événements les plus importants du développement du SNC. Pendant la phase d'intense neurogénèse, les cellules sont produites de façon excédentaire. Cet excédent est contrebalancé par des processus physiologiques dont la mort cellulaire qui touche majoritairement les précurseurs neuronaux et les cellules gliales respectivement au cours du premier et du deuxième semestre de gestation. Ainsi, au cours du développement cérébral prénatal, deux séries de mort cellulaire programmée ont été observées : une apoptose embryonnaire simultanée à la prolifération et à la migration des neurones, et une apoptose fœtale coïncidant avec la différenciation neuronale, sans doute reliée à la synaptogénèse (Rakic et Zecevic 2000).

## 5. Neurogénèse adulte

La neurogénèse embryonnaire a été longtemps considérée comme le seul phénomène de prolifération cellulaire cérébral. Il faut attendre 1998 et les travaux de l'équipe de Gage pour mettre en évidence ce phénomène de neurogénèse chez l'humain à l'âge adulte (Eriksson et al. 1998) ; même si de tels phénomènes avaient en partie été décrits des années auparavant chez l'animal (Altman et Das 1965). Les nouvelles cellules capables de repeupler le cerveau sont issues de cellules souches neurales multipotentes, capables de s'autorenouveler et de produire les différentes cellules du système nerveux (Gage et al. 1998). Tout comme la neurogénèse embryonnaire, la neurogénèse adulte se décompose en une phase de prolifération, une phase de migration et une phase de différenciation cellulaire. Deux régions principales du cerveau adulte ont été identifiées dans lesquels des cellules progénitrices sont capables de se différencier en nouveaux neurones : la zone subgranulaire (SGZ) du gyrus denté (DG) de la formation hippocampale et la zone subventriculaire (SVZ) qui borde les ventricules latéraux (VL) (Taupin et Gage 2002). Les nouvelles cellules produites au niveau de la SGZ vont migrer dans la couche granulaire du DG dans laquelle elles se différencient en cellules neuronales et gliales (Cameron et al. 1993). En ce qui concerne la SVZ, les nouvelles cellules vont transiter à travers le courant de migration rostral (RMS) vers les bulbes olfactifs (OB) où elles s'y différencieront en neurones dans la zone périglomérulaire du OB (Doetsch et al. 1999). D'autres zones cérébrales, comme la substance noire, pourraient également présenter un tel phénomène de neurogénèse à l'âge adulte (Zhao et al. 2003).

De très nombreux facteurs semblent capables d'influencer le phénomène de prolifération cellulaire cérébrale à l'âge adulte (Gage et al. 1998). Il a été montré chez le rat que des facteurs environnementaux pouvaient interférer avec ce mécanisme. Le comportement maternel ou encore l'exercice physique augmentent le nombre de cellules néoformées (Bredy et al. 2003 ; Brown et al. 2003) alors que le stress entraîne l'effet inverse (Tanapat et al. 2001). Les processus neurodégénératifs entraînent aussi une augmentation du taux de prolifération chez le rat (Aponso et al. 2008), ce qui peut être considéré comme un phénomène de compensation.

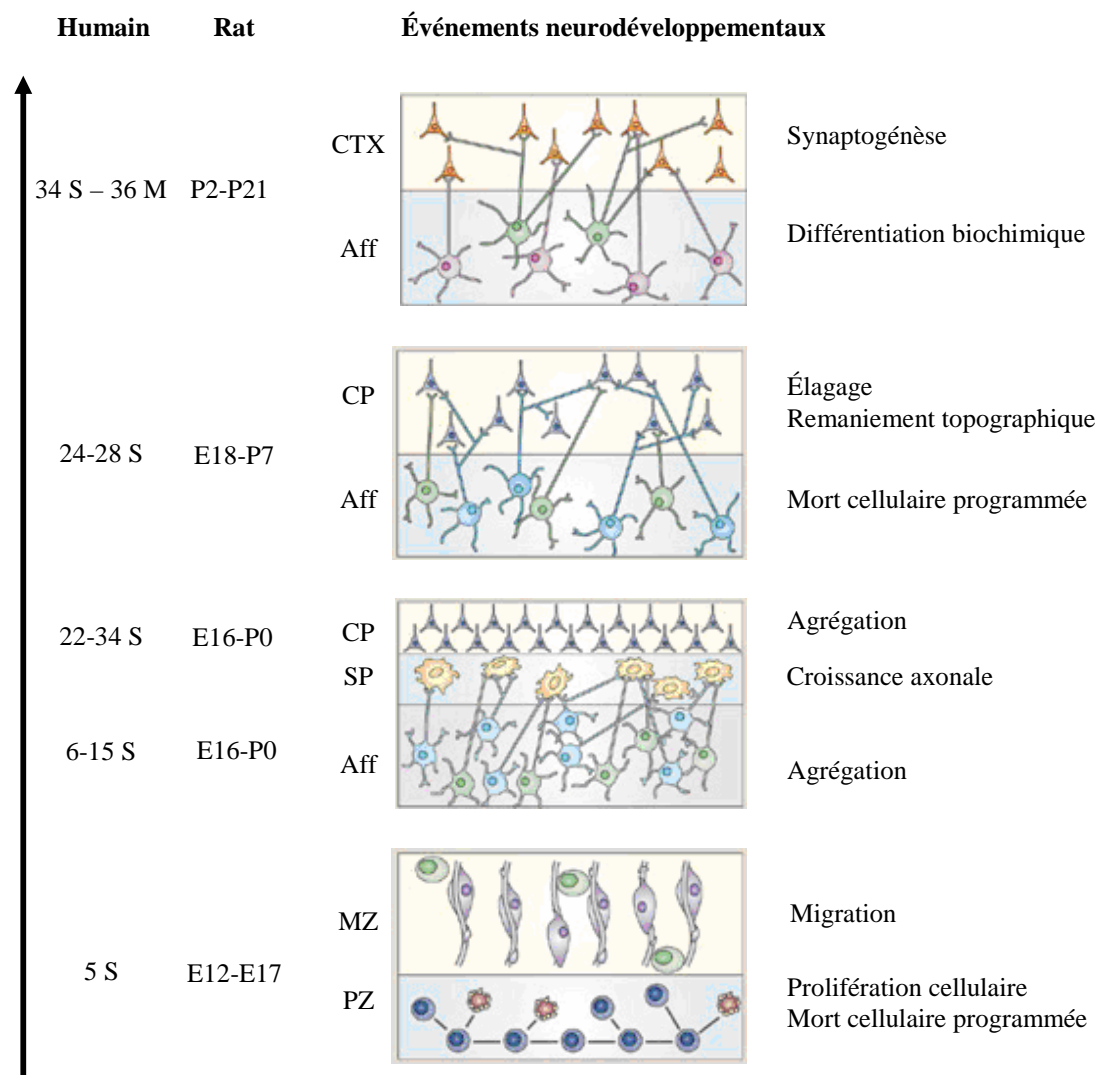
Ce sont les effets des facteurs physiologiques sur la neurogénèse adulte qui ont été les plus étudiés. Il a été montré une implication des facteurs de croissance, des hormones (Tanapat et al. 1999), mais surtout des neurotransmetteurs. En effet, la 5-HT exercerait un effet positif sur la prolifération cellulaire cérébrale à l'âge adulte (Brezun et Daszuta 1999) médié par le récepteur 5-HT<sub>1A</sub> (Radley et Jacobs 2002), alors que la DA aurait l'effet inverse



(Dawirs et al. 1998). Enfin, l'impact des drogues sur le taux de prolifération cellulaire a également été étudié. Chez le rat adulte, par exemple, la cocaïne administrée en aiguë n'altère pas la prolifération, alors qu'en chronique elle affecte la prolifération mais pas la différenciation neuronale (Yamaguchi et al. 2004). L'administration chronique d'opiacés entraîne également une baisse de prolifération cellulaire (Eisch et al. 2000), ce que l'on retrouve aussi après traitement avec de la métamphétamine (Teuchert-Noodt et al. 2000).

## ***B. Comparaison du développement cérébral chez l'Homme et chez le rat***

La période prénatale chez le rat correspondrait aux quatre premiers mois de vie embryonnaire dans l'espèce humaine. Le rat nouveau-né est alors à un stade de développement cérébral proche de celui d'un fœtus humain en fin de deuxième trimestre. Il est considéré qu'à 21 jours de vie postnatale, un rat est à un stade de maturation cérébrale proche d'un nourrisson à la naissance, comme l'estime Clancy et al. (2007) à l'aide de son échelle algorythmique de développement inter-espèces ([www.translatingtime.net](http://www.translatingtime.net)). La Figure 12 représente les chronologies relatives du développement cérébral de l'Homme et de la souris, qui présente un profil de développement similaire à celui du rat.



**Figure 12 : Périodes clés du développement cérébral chez l'homme et le rat.** Aff, afférences ; CP, Plaque corticale; CTX, cortex ; E, jour de vie embryonnaire; M, mois ; MZ, zone marginale ; P, jour de vie postnatale ; PZ, zone de prolifération ; SP, subplate; S, semaine. (tiré de Thompson et al. 2009).

## C. Développement des systèmes monoaminergiques

### 1. Chez l'Homme

#### a. Développement des neurones dopaminergiques

Chez l'homme, il est encore difficile de dresser une chronologie précise des différents événements du développement des systèmes monoaminergiques au cours de la première

moitié de grossesse, du fait de l'accès très limité aux spécimens cérébraux obtenus post-mortem à des stades précoces de périodes prénatales.

A partir de la 4-5<sup>ème</sup> semaine de vie embryonnaire, dès les premières divisions cellulaires, la tyrosine hydroxylase (TH) est exprimée par les cellules du futur mésencéphale (Puelles et Verney 1998). A partir de la 6<sup>ème</sup> semaine, les cellules immunoréactives à la TH (TH+) commencent à étendre leurs projections vers les ganglions de la base via le faisceau télencéphalique. Les couches de la plaque corticale, qui composeront le futur cortex cérébral, ne commencent à être innervées par les fibres dopaminergiques TH+ qu'à partir de la 13<sup>ème</sup> semaine de vie embryonnaire où elles atteignent le cortex occipital (Verney et al. 1991 ; Zecevic et Verney 1995). Le développement des voies mésocorticolimbiques et nigrostriée pendant des périodes plus postérieures de la vie périnatale chez l'homme reste mal défini. Il n'est pas exclu que, pendant ces périodes de développement cortical intense, des phénomènes de réorganisation des innervations existent, comme il a été montré chez le singe (Foote et Morrison 1984 ; Rosenberg et Lewis 1995). Lors de l'adolescence, un processus d'élagage de l'innervation dopaminergique au niveau cortical a cependant été retrouvé (Lewis et Akil 1997).

## **b. Développement des neurones sérotoninergiques**

Chez l'homme, les neurones sérotoninergiques composant le futur noyau du raphé, peuvent être détectés chez l'embryon de 5 semaines (Sundstrom et al. 1993). Ils présentent une croissance et une multiplication rapides jusqu'à la dixième semaine de gestation (Levallois et al. 1997). Les axones sérotoninergiques immunoréactifs au SERT (SERT+) sont détectables dans les zones sous corticales à partir de 10 semaines de vie prénatale (Verney et al. 2002). Pendant les périodes plus postérieures de la vie prénatale, la chronologie exacte du développement des neurones sérotoninergiques reste peu connue. Cependant les données obtenues chez le singe montrent que les processus de croissance et de migration des projections des neurones sérotoninergiques suivent chronologiquement ceux des systèmes noradrénergiques et dopaminergiques (Levitt et Rakic 1982). Les fibres SERT+ atteindraient chez l'Homme la formation hippocampale à partir de la moitié de vie prénatale, comme il a été suggéré chez le singe (Berger et al. 1993).

La densité des synapses sérotoninergiques au niveau du cortex cérébral double de la naissance à un an de vie pour atteindre un pic à ce stade. La densité des fibres

sérotoninergiques diminue alors jusqu'à 10 ans pour se stabiliser à un niveau synaptique adulte (Huttenlocher et Dabhlkar 1997). De façon similaire, le taux de 5-HT augmente pendant les deux premières années après la naissance puis diminue jusqu'à l'âge de cinq ans où il reste constant jusqu'à l'âge adulte (Hedner et al. 1986 ; Toth et Fekete 1986).

## **2. Chez le rat**

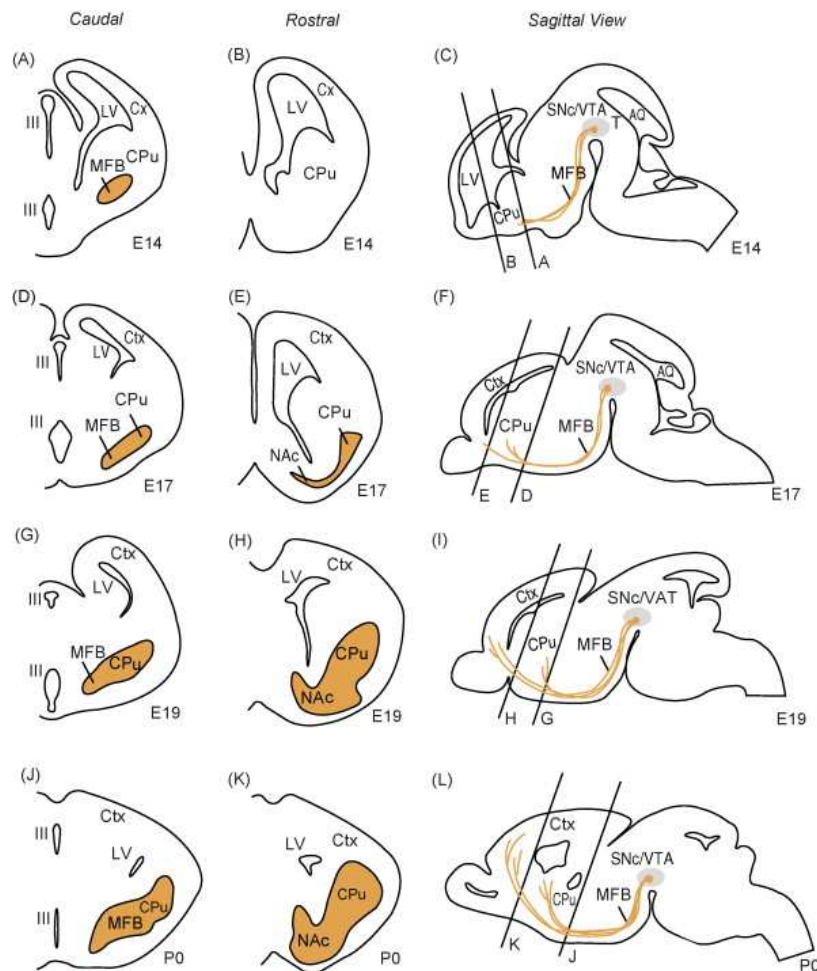
### **a. Développement des neurones dopaminergiques**

#### ***\* Prolifération cellulaire et croissance axonale***

Chez le rat, les premiers neurones dopaminergiques apparaissent à partir du 12<sup>ème</sup> jour de vie embryonnaire (E12) et le processus de multiplication cellulaire de ces neurones est maximal à E13 (Smidt et Burbach 2007 ; Lauder and Bloom 1974). Chez le rat et plus généralement chez toutes les espèces vertébrées étudiées en laboratoire, les neurones dopaminergiques commencent à exprimer la TH très vite après leur dernier cycle mitotique alors même que le corps cellulaire du neurone migre vers sa localisation finale (Medina et al. 1994 ; Puelles et Verney 1998).

Le processus de croissance et de migration axonale des neurones mésencéphaliques s'initie très vite après la prolifération cellulaire. Après avoir étendu leurs projections hors du mésencéphale, les axones des neurones dopaminergiques se regroupent au sein des deux larges faisceaux télencéphaliques, qui vont innervier de larges zones du diencéphale, comme le striatum et le NAc, et du télencéphale, comme le CPF (Specht et al. 1981 ; Verney, 1999 ; Voorn et al. 1988). Les différentes étapes de cette croissance axonale chez le rat sont schématisées sur la Figure 13 (tirée de Van den Heuvel et Pasterkamp 2008).

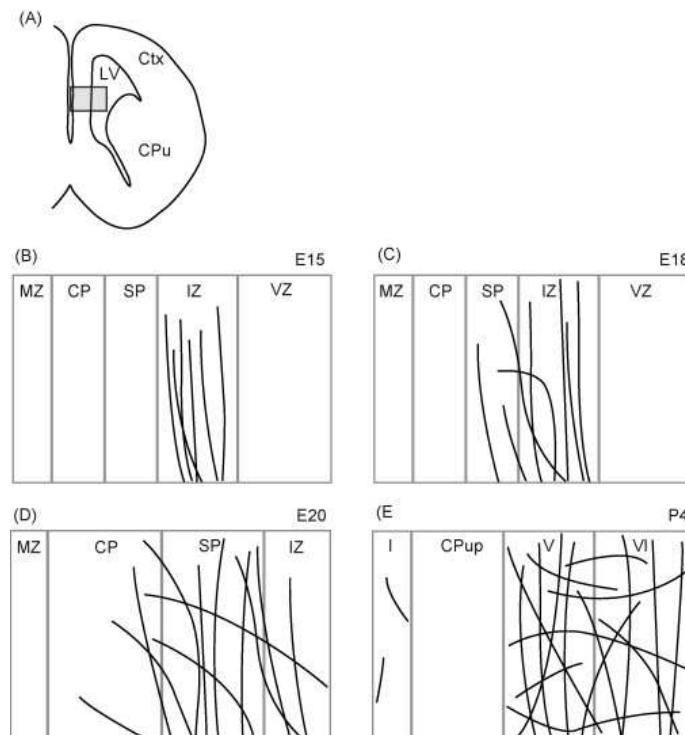
A E14, les axones atteignent la région ventrolatérale du noyau caudé putamen (CPu) au niveau du télencéphale caudal (A-C). Les jours suivants, les projections axonales se densifient dans cette zone et continuent leur progression caudo-rostrale (E17, D-F). A E19, tout le striatum et le NAc sont massivement innervés par les axones dopaminergiques. Cependant, cette innervation subit encore quelques modifications anatomiques jusqu'à la naissance, où les axones se projettent dans des zones plus médianes et proches des ventricules latéraux (J-L).



**Figure 13 : Ontogénèse des projections de la voie mésostriatale.** Cette représentation schématique illustre la distribution spatiotemporelle des axones dopaminergiques mésencéphaliques au niveau du striatum caudal (A, D, G, J) et rostral (B, E, H, K), ainsi qu'en vue sagittale (C, F, I, L) pendant le développement prénatal du rat. III, troisième ventricule; AQ, aqueduc; Ctx, cortex; MFB, faisceau médian du télencéphale (medial forebrain bundle); NAc, noyau accumbens; SNc/VTA, substance noire pars compacta/aire tegmentale ventrale. (tiré de Van den Heuvel et Pasterkamp 2008).

C'est seulement à E16 que le cortex frontal commence à recevoir ses premières innervations dopaminergiques (Figure 13 I et 14). Celles-ci sont alors présentes dans les zones intermédiaires (IZ) et sous-corticales (SP). A partir de E20, les couches corticales augmentent en taille et les premiers axones dopaminergiques étendent leurs projections des zones sous-corticales (SP) vers les zones corticales (CP). Pendant le développement postnatal, l'innervation dopaminergique et le développement cortical semblent être corrélés. En effet, les fibres dopaminergiques innervent seulement les couches corticales contenant les cellules différenciées (commençant avec la couche VI), alors que les couches supérieures à la plaque corticale (CPup) composées de cellules encore indifférenciées sont dépourvues de fibres dopaminergiques. C'est à la fin de la première semaine de vie postnatale que les fibres

dopaminergiques dans le CPF présentent les mêmes caractéristiques topographiques que celles observées chez l'adulte (Kalsbeek et al. 1988 ; Van Eden et al. 1987).



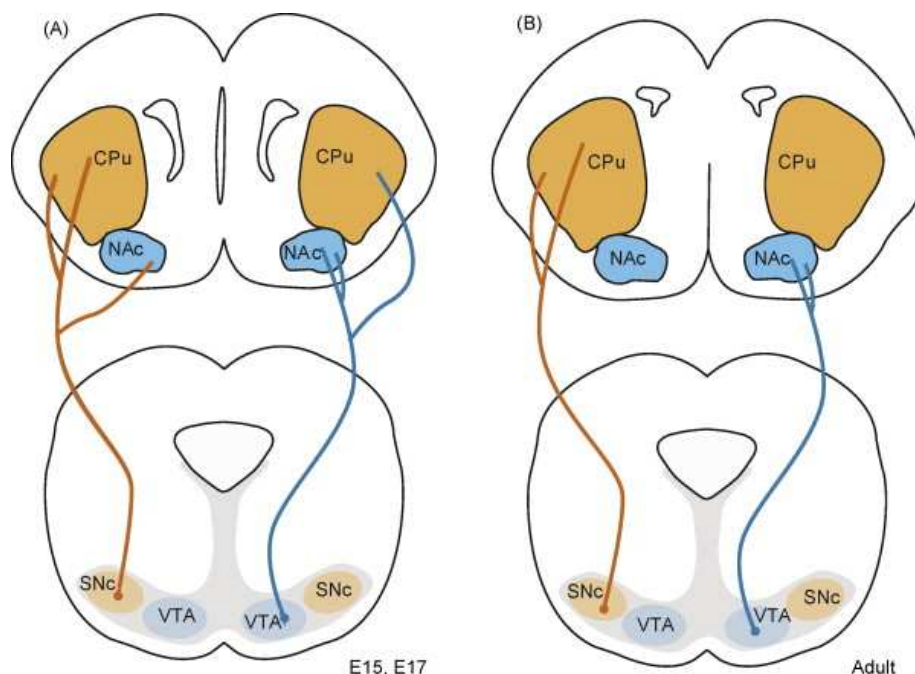
**Figure 14 : Ontogénèse des projections mésocorticales.** (A) Représentation schématisée indiquant la région détaillée dans les tableaux B à E. I, couche I ; CP, plaque corticale ; CPu, noyau caudé putamen ; CPup, zone supérieure à la plaque corticale ; IZ, zone intermédiaire ; LV, ventricule latéral ; MZ, zone marginale ; SP, zone sous corticale ; V, couche V ; VI, couche VI ; VZ, zone ventriculaire. (Tiré de Ven den Heuvel et Pasterkamp 2008).

En plus du striatum, du NAc et du CPF, d'autres régions du SNC adulte sont innervées par les fibres dopaminergiques, comme l'hippocampe et l'amygdale. Bien que différentes études relèvent la présence de fibres dopaminergiques dans ces structures au cours du développement (Specht et al. 1981 ; Voorn et al. 1988), il existe peu d'informations précises concernant leur ontogénèse.

#### *\* Synaptogénèse et élagage axonal*

Chez l'adulte, les neurones de la SNc innervent principalement le striatum dorsal (voie nigro-striée), alors que ceux de l'ATV innervent plus spécifiquement le striatum ventral ou NAc (voie mésolimbique). Le système nigro-strié a un rôle essentiel dans les fonctions

motrices, alors que le système limbique est impliqué dans différents processus de motivation et de réactions émotionnelles. La corrélation entre les fonctions spécifiques des différents systèmes dopaminergiques et leurs distributions topographiques dans le striatum (dorsal et ventral), suggère que l'élaboration de la cartographie des projections est un processus critique pour le bon fonctionnement du système dopaminergique. Il a été montré que l'élagage axonal est essentiel à cette spécification topographique des voies mésolimbique et nigro-striée (Hu et al. 2004). L'élagage est un phénomène physiologique qui permet d'éliminer les branches neuronales présentes en excès et les connections immatures du système nerveux pour assurer la formation de circuits neuronaux fonctionnels (Luo et O'Leary 2005). Entre E15 et E17, les axones des neurones dopaminergiques du mésencéphale (SNc/ATV) se projettent de façon indifférenciée dans le striatum et le NAc (Figure 15 A). La topographie des projections des voies mésolimbique et nigrostriée observée chez l'adulte, est atteinte en fin de période embryonnaire et début de vie postnatale, par une élimination sélective des axones collatéraux de l'ATV et de la SNc, innervant plus spécifiquement le striatum dorsal et le NAc (ou striatum ventral) (Figure 15 B). Les signaux moléculaires qui régulent cet élagage sélectif des axones des neurones dopaminergiques mésencéphalique restent à identifier.



**Figure 15 : Elimination sélective (ou élagage) des axones des neurones dopaminergiques du mésencéphale,** observée entre la période prénatale (A) et le stade adulte (B) (tiré de Van en Heuvel et Pasterkamp, 2008).

## **b. Développement des neurones sérotoninergiques**

Les projections des neurones des noyaux du raphé rostral sont visibles très peu de temps après la détection de 5-HT au niveau des corps cellulaires, soit au 13<sup>ème</sup> jour de vie embryonnaire. Ces fibres non ramifiées croissent à travers les faisceaux télencéphaliques et à partir du 15<sup>ème</sup> jour, elles se projettent au niveau du diencéphale, où elles se ramifient. A E17, les fibres médiales atteignent le pôle frontal du télencéphale, tandis que les fibres latérales se projettent dans l'hypothalamus. Dans le cortex cérébral, les fibres se séparent en deux groupes, pour innover respectivement les couches superficielles de la zone marginale (MZ) et la plaque corticale (Rubenstein 1998).

## ***D. Facteurs influençant le développement et le maintien des neurones monoaminergiques***

### **1. Les facteurs de transcription et de croissance**

Le développement des neurones dopaminergiques est médié par l'activation de deux grandes cascades de facteurs de transcription. La première implique le récepteur nucléaire Nurr1 qui est très impliqué dans la synthèse de la DA, puisque l'expression de la TH dépend de son activation. La deuxième cascade est composée des facteurs de transcription à homéodomaine, qui sont les produits de gènes homéotiques : Ptx3, Lmx1b, En-1 et En-2. Ils sont exprimés avant l'apparition des neurones dopaminergiques et ont pour rôle de maintenir l'expression de la DA dans ces neurones (Burbach et al. 2003). Les modifications de l'expression de Ptx3 altèrent la formation de la SN en induisant une désorganisation des neurones dopaminergiques (Smidt et al. 2003). Les facteurs de croissance, tels que le brain-derived neurotrophic factor (BDNF), le glia-derived neurotrophic factor (GDNF), le Fgf8, le Shh et le Wnt1, sont aussi très impliqués dans développement et le maintien des neurones dopaminergiques (Vitalis et al. 2005).

Le développement du système sérotoninergique est très largement sous la dépendance du facteur astroglial, la S-100 $\beta$  (Azmitia et al. 1990). L'administration de cellules gliales sécrétant la S-100 $\beta$  induit le développement et la multiplication de terminaisons sérotoninergiques, alors que l'administration de cellules n'exprimant pas de S-100 $\beta$ , n'induit



pas de croissance (Ueda et al. 1995). D'autres facteurs, comme le BDNF, CREB, CREM et ATF-1, sont connus pour influencer la maturation des neurones sérotoninergiques. Leur différenciation est sous le contrôle d'autres molécules comme les protéines morphogéniques osseuses et les facteurs neurotrophiques ciliaires.

Une molécule commune au développement des voies dopaminergiques et sérotoninergique est le BDNF, qui est la neurotrophine la plus retrouvée dans le SNC. Initialement caractérisé comme une protéine capable de promouvoir la survie des neurones périphériques, le BDNF est maintenant reconnu comme étant un facteur impliqué dans un large répertoire de fonctions, comme la migration, la différenciation phénotypique, la croissance axonale et dendritique, la formation de synapses et la survie neuronale des systèmes monoaminergiques (Huang et Reichardt 2001 ; Lewin et Barde 1996). Par exemple, au cours de la période critique du développement du cortex visuel, un excès de BDNF (Cabelli et al. 1995) ou le blocage de son activation (Cabelli et al. 1997) entraîne un établissement anormal des colonnes de dominance oculaire dans cette zone du cortex. En plus de son rôle prédominant dans les différents processus du développement, le BDNF est connu pour être impliqué dans le maintien et la survie des neurones au stade adulte. Il présente un rôle important dans le recouvrement neuronal à la suite d'altérations cérébrales (Ghosh et al. 1994 ; Lewin et Barde 1996). Il présente aussi des effets modulateurs sur les fonctions monoaminergiques (Martin-Iverson et al. 1994 ; Nawa et al. 1994 ; Celada et al. 1996 ; Siuciak et al. 1996). Enfin, le BDNF apparaît comme ayant un rôle clé dans la plasticité synaptique (McAllister 1999 ; Lu 2003) et la neurogénèse l'adulte (Lu et al. 2005).

## **2. Les monoamines**

Les neurotransmetteurs sont exprimés en très grande quantité au cours de certaines étapes du développement, puis au stade adulte, exprimés sélectivement par des synapses spécifiques et de façon moins importante (Parnavelas et Cavanagh 1988). Cette augmentation transitoire de l'expression des neurotransmetteurs et/ou de leurs récepteurs dans le SNC se produit au cours de périodes pendant lesquelles les neurotransmetteurs sécrétés ont un rôle essentiel au bon déroulement du développement cérébral. Les neurotransmetteurs sont impliqués dans la formation et la maturation des contacts synaptiques, en régulant l'activité électrique, l'excitabilité et la sécrétion des neurotrophines (Zhang et Poo 2001).

## **a. La sérotonine**

Les neurones sérotoninergiques font partie des premiers neurones à être générés au niveau cérébral (Lauder et al. 1981). La 5-HT est sécrétée par des axones en croissance avant même l'établissement de synapses. Différentes études ont montré que les récepteurs sérotoninergiques sont exprimés suffisamment tôt dans le développement pour médier les effets de la 5-HT (Roth et al. 1991 ; Hellendall et al. 1993 ; Tecott et al. 1995). De plus, la distribution et l'expression sérotoninergique pendant le développement, suivent une évolution spatiale et temporelle très dynamique. Par exemple, certaines fibres composant les faisceaux d'axones thalamocorticaux, expriment de façon transitoire le phénotype sérotoninergique au cours du développement chez l'Homme (Verney et al. 2002), mais aussi chez le rongeur (Lebrand et al. 1996 ; Cases et al. 1998).

De nombreuses études chez l'animal ont démontré l'implication de la 5-HT dans la régulation du développement cérébral dans de nombreux phénomènes, tels que la neurogénèse (Lauder et Krebs 1976 ; Lauder et al. 1981), la sélection neuronale par des mécanismes d'apoptose, la migration neuronale, l'élaboration dendritique, la différenciation cellulaire, la synaptogénèse et la survie neuronale (Mazer et al. 1997 ; Yan 1997, Faber et Haring 1999 ; Kondoh 2004 ; Okado 1993).

La concentration en 5-HT ne doit être ni trop basse, ni trop élevée pendant la période critique de synaptogénèse. Les altérations des connections cérébrales induites par un excès de 5-HT ou une activation inappropriée des récepteurs sérotoninergiques pendant le développement, pourraient être associées à des troubles de l'humeur, l'addiction aux drogues ou encore l'autisme (Gaspar et al. 2003). Il est suggéré que l'autisme est associé à une hyposérotoninergie au cours de la période de vie foetale, mais aussi à une hypersérotoninergie lors du développement postnatal (Chugani 2002). Il a été mis en évidence chez des souris knockout pour le SERT ou pour la MAO-B qu'une trop forte concentration de 5-HT dans l'espace extraneuronal empêche le développement normal du cortex sensori-moteur (Cases et al. 1996). Une déplétion en 5-HT pendant des périodes critiques du développement périnatal chez le rat entraîne au cours du développement une diminution du nombre de synapses, qui a pour conséquence à long terme une augmentation de ce nombre chez le rat adulte (Whitaker-Azmitia 2001). Cette dernière observation pourrait être la conséquence d'une synaptogénèse importante et/ou d'une diminution des processus apoptotiques, induites pour compenser l'initiale diminution de la synaptogénèse.

## **b. La dopamine**

La DA joue elle aussi un rôle majeur dans la programmation du développement moteur et cognitif. Les perturbations du développement des systèmes dopaminergiques peuvent être associées à des dyskinesie, dystonie, tics, troubles obsessionnels compulsifs et mouvements anormaux des yeux (Herlenius et Lagercrantz 2001). Des troubles moteurs ont été mis en évidence chez le jeune rat après lésions des voies dopaminergiques à la 6-OHDA, mais aussi chez les souris TH-KO qui souffraient d'hypoactivité, d'adipsie et d'aphagie – troubles reversés par l'administration de L-DOPA (Zhou et Palmiter 1995). Le turn-over de la DA ainsi que la densité des récepteurs D1 dans le striatum sont supérieurs en période périnatale par rapport au stade adulte (Boyson et Adams 1997). Des études in vitro ont montré que l'activation des RD1 induit une baisse de la croissance axonale et dendritique, alors que l'activation des RD2 stimule l'extension des neurones corticaux (Levitt et Moore 1978 ; Todd 1992). Ainsi, l'hypothèse est qu'une modification des taux normaux de DA au cours de périodes critiques du développement peut entraîner une altération de la croissance axonale et dendritique. De plus, certains neurones TH+ ne sont présents qu'à titre transitoire au niveau de certaines zones cérébrales vers le milieu de la période de vie embryonnaire chez l'homme (Shatz et al. 1988 ; Kostovic et Rakic 1990), suggérant que la DA a un rôle précis au cours de périodes critiques du développement cortical.

La précocité du développement du système sérotoninergique et dopaminergique, la présence transitoire de leurs marqueurs sur des systèmes neuronaux (a posteriori non monoaminergiques), et le large spectre d'effets de la 5-HT et de la DA durant la morphogenèse du SNC, sont autant d'arguments qui soulignent le rôle régulateur de ces monoamines au cours de périodes précises appelées fenêtres de vulnérabilité, dans le développement et la maturation du cerveau chez les mammifères, avant même qu'ils n'exercent leur rôle de neurotransmetteur.

## ***E. Exposition précoce aux psychostimulants et troubles du développement***

La perturbation des systèmes monoaminergiques au cours des fenêtres de vulnérabilité peut induire des conséquences anatomiques, neurochimiques et fonctionnelles, qui ne se manifestent qu'au cours de stades plus tardifs. La complexité et la nature unidirectionnelle du développement du SNC limitent les possibilités de compenser les altérations induites par exemple par des modifications des systèmes monoaminergiques. Du fait du déroulement de la croissance et de la maturation du SNC sur une période très longue chez l'homme, le risque d'effets néfastes suite à des altérations de ces systèmes existe de la conception à l'adolescence. Un grand nombre d'évidences suggère aujourd'hui que les facteurs exogènes, comme l'exposition à des substances pharmacologiques ou chimiques, peuvent interférer avec la formation du SNC. Des troubles du développement ont déjà été observés chez des enfants exposés en période prénatale à des substances altérant directement ou indirectement les taux de monoamines cérébraux, comme la cocaïne (Whitaker-Azmitia 1998), l'alcool (Kim et al. 1997 ; Sari et al. 2001 ; Zhou et al. 2001) ou encore la nicotine (Muneoka et al. 1997).

Les psychostimulants sont des molécules qui agissent directement sur les systèmes monoaminergiques et entraînent la libération massive des monoamines dans les espaces extraneuronaux. Ainsi, l'exposition à des psychostimulants au cours de fenêtres de vulnérabilité pendant lesquelles des stimulations anormales des systèmes monoaminergiques entraînent des troubles spécifiques dans la maturation cérébrale, peut avoir des conséquences irréversibles sur le fonctionnement du SNC. Même si leurs actions n'entraînent pas directement d'effets tératogènes chez l'Homme, les psychostimulants peuvent induire des modifications discrètes à long terme. La cocaïne est le psychostimulant pour lequel les interactions avec les systèmes monoaminergiques du cerveau en cours de développement sont les mieux connues (Seidler et al. 1995). Chez l'Homme, l'exposition prénatale à la cocaïne peut entraîner des troubles du développement moteur immédiatement après la naissance (Lester et al. 2002 ; Miller et al. 1997), ainsi que des comportements anormaux qui apparaissent à partir des 2-3 premières années, probablement dus à des troubles des systèmes dopaminergiques, et qui peuvent être encore retrouvés chez l'enfant de 7 ans (Messinger et al. 2004 ; Levine et al. 2008). L'exposition prénatale à la cocaïne peut aussi entraîner chez l'enfant des troubles de l'éveil et de l'attention (Chiriboga 2003). Cependant, il reste difficile

d'établir des relations de cause à effet entre l'exposition à des psychostimulants pendant une période précoce du développement et les potentiels troubles comportementaux retrouvés à des stades plus tardifs chez l'homme. Cela vient du fait qu'il existe de multiples facteurs de risques coexistant au sein d'une population donnée, comme la prise simultanée de différentes molécules psychoactives (psychostimulants, alcool, marijuana, nicotine...), les troubles du comportement maternel, un milieu social ou un état nutritionnel défavorable...

Les études précliniques d'exposition précoce à des psychostimulants ont largement contribué à mettre en évidence l'importance des monoamines dans le bon déroulement du développement cérébral, à définir plus précisément les fenêtres de vulnérabilité et à caractériser les troubles neurobiochimiques et fonctionnels à long terme entraînés par l'exposition à ces molécules. La DA et la 5-HT participent à la régulation des taux d'ARNm de BDNF à différentes étapes du développement (Ivy et al. 2003 ; Vaidya et al. 1997 ; Zetterström et al. 1999 ; Fumagalli et al ; 2001). Ainsi, les psychostimulants administrés à des stades précoces, via leurs actions directes ou indirectes sur les systèmes monoaminergiques du fœtus, peuvent affecter la fonction du BDNF et de façon interliée les différents processus de neurogénèse. Les études réalisées sur l'exposition prénatale à la cocaïne ont montré une diminution des taux de BDNF (Yan et al. 2004), ainsi qu'une diminution du taux de prolifération cellulaire (Clarke et al. 1996) chez le jeune rat. Des modifications du développement des systèmes monoaminergiques ont aussi été observées. En effet, l'exposition prénatale à la cocaïne entraîne un développement anormal des dendrites au niveau du cortex cingulaire (Jones et al. 1996 ; Wang et al. 1995), une altération des voies dopaminergiques caractérisée par une diminution de la TH, de la densité de DAT au niveau des corps cellulaires et des projections axonales et une perturbation de la libération de DA sous stimulation pharmacologique (Byrnes et al. 1993 ; Keller et al, 1994, 1996 ; Collins et Meyer, 1996). L'exposition prénatale à la cocaïne entraîne donc des modifications de la fonction dopaminergique, mais aussi noradrénergique et sérotoninergique (Stadlin et al. 1995 ; Meyer et Dupont 1993 ; Meyer et al. 1994 ; Akbari et Azmitia 1992 ; Goodwin et al. 1995 ; Seidler et Slotkin 1993).

## **II. Effets d'une exposition au MDMA sur le cerveau en développement**

### ***A. Chez l'Homme***

Très peu d'observations cliniques ont été réalisées sur les effets d'expositions au MDMA au cours du développement. Elles se sont intéressées aux conséquences de la prise de MDMA par la femme enceinte sur le développement de la progéniture à la naissance. McElhatton et son équipe ont montré que le risque de développer des malformations congénitales, comme les pieds bots et les malformations cardiaques, est significativement supérieur chez les nourrissons exposés in utero au MDMA par rapport à ceux dont les mères ont témoigné de l'absence de consommation d'ecstasy pendant leur grossesse (McElhatton et al. 1999). De plus, il a été rapporté que la présence, à la naissance, de malformations de la paroi abdominale, est positivement corrélée avec la consommation par la femme enceinte de drogues récréatives, dont l'ecstasy (Draper et al. 2008). Aujourd'hui, il n'existe aucune donnée considérant les conséquences comportementales et neurologiques à court et long terme de la prise de MDMA en période prénatale chez l'humain.

### ***B. Chez le rat***

Comme il a été décrit précédemment, la période de développement cérébral prénatale chez l'homme comprend chez le rat la période prénatale et néonatale, jusqu'à environ 21 jours de vie postnatale. C'est pourquoi depuis les années 90, différentes études d'exposition prénatale et néonatale au MDMA ont été réalisées chez le rat afin d'évaluer les effets biochimiques et comportementaux de telles expositions sur les animaux au cours du développement. Cependant, les modèles d'exposition étant très variables d'un laboratoire à un autre, il est difficile de mettre en relation les résultats des uns par rapport aux autres, et actuellement impossible d'établir des conclusions définitives sur les conséquences à court et long terme de l'exposition au MDMA à un stade précoce. En effet, la période d'exposition, la dose, la voie ou la fréquence d'administration du MDMA ainsi que l'espèce utilisée, sont autant de paramètres variables.

## **1. Pharmacocinétique**

Chez le rat nouveau-né, le taux de MDMA plasmatique atteint son maximum plus rapidement que chez le rat adulte, mais son élimination de l'organisme est plus lente. Par exemple, à un jour de vie postnatale (P1), une dose de 20 mg/kg injectée par voie sous-cutanée atteint une concentration plasmatique à 14 min, avec une demi-vie d'environ 3 h. A P11, le taux plasmatique maximal se retrouve à 13 min et la demi-vie de la drogue est approximativement de 4 h (Williams et al. 2004), alors que chez l'adulte, elle est de 73 min (Cho et al. 1990).

Administré à la rate gestante, le MDMA passe la barrière placentaire et est retrouvé dans le compartiment foetal. Les concentrations de MDMA et MDA, au niveau cérébral chez le fœtus (E14) atteignent respectivement leur maximum 2 h et 6h, après administration en sous-cutanée à la rate gestante (15 mg/kg). La demi-vie d'élimination est d'environ 3 h, alors que celle retrouvée chez la mère est de 90 min (Campbell et al. 2006). Il a aussi été montré dans cette étude que la position utérine ne modifie pas la distribution du MDMA et de son métabolite dans le compartiment foetal.

## **2. Exposition néonatale au MDMA**

La majorité des études d'exposition au MDMA au cours du développement s'est intéressée à la période néonatale chez le rat. Celle-ci, définie entre le premier jour de vie postnatale (P1) et le 21<sup>ème</sup> (P21), correspond globalement au deuxième et troisième trimestre de grossesse chez l'humain. Les structures cérébrales impliquées dans les fonctions cognitives se développent essentiellement et rapidement pendant cette période, tant chez l'homme que chez le rat (Bayer et al. 1993 ; Rice et Barone 2000, Clancy et al. 2001, 2007). L'exposition au MDMA chez le rat nouveau-né semble entraîner des conséquences à court (quelques heures), moyen (quelques jours) et long terme sur les systèmes sérotoninergiques et dopaminergiques, caractérisées par des modifications neurobiochimiques et comportementales, décrites dans les paragraphes suivants.

## a. Conséquences sur les systèmes monoaminergiques

### \* A court terme

L'administration d'une dose unique de MDMA chez le rat nouveau-né entraîne des altérations neurobiochimiques des neurones monoaminergiques quasi immédiates (Tableau 2). Une diminution du taux de 5-HT dans les zones riches en afférences sérotoninergiques comme l'hippocampe et le cortex frontal, mais aussi dans le striatum, est globalement observée quelques heures à quelques jours après une administration unique de MDMA, selon les protocoles expérimentaux (Broening et al. 1994, 1995 ; Williams et al. 2005 ; Schaefer et al. 2008).

L'exposition au MDMA chez le rat nouveau-né ne semble avoir que de faibles conséquences sur les systèmes dopaminergiques : aucune modification du taux de DA n'a été observée dans le striatum (Broening et al 1994 ; Aguirre et al. 1998 ; Williams et al 2005). Cependant, le taux de DOPAC est diminué dans cette même structure (Williams et al 2005 ; Schaefer et al. 2008).

**Tableau 2 : Conséquences à court terme d'une exposition aigue postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.**

Exposition		Observation		
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	Référence
P10	10, 20 ou 40 ; per os	3, 24h et 7j après	▼ 5-HT dans le cortex frontal, le noyau caudé et l'hippocampe (3 et 24h ap.); = 5-HT et 5-HIAA (7 j ap.) = recapture de la 5-HT, fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine (3h, 24h et 7j ap.) = DA (3h, 24h et 7j ap.)	Broening et al. 1994, 1995
P14	20 ; s.c.	24h après	= taux de 5-HT dans l'hippocampe, cortex frontal, striatum et hypothalamus = taux de DA dans le striatum et hypothalamus	Aguirre et al. 1998
P11	10 ; 4x/j ; s.c	1, 7, 24, 30 et 78h après la 1 <sup>ère</sup> injection	▼ 5-HT dans hippocampe (toutes heures), striatum (24, 30 et 78h ap.) = fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans hippocampe = DA dans striatum ▼ DOPAC dans striatum (1, 7 et 24h ap.)	Williams et al. 2005
P11	10 ; 4x/j ; s.c	24h après	▼ 5-HT et 5-HIAA dans striatum et hippocampe = DA dans striatum ▼ DOPAC dans striatum	Schaefer et al. 2008



Ces résultats suggèrent que le MDMA administré de façon unique entre P10 et P14 agit sur le cerveau principalement sur le système sérotoninergique et de façon plus ponctuelle sur le système dopaminergique.

**\* A moyen terme**

L'exposition répétée au MDMA chez le rat nouveau-né a des conséquences à moyen terme manifestes lors de la période du sevrage (P21), soit en fin de période de développement cérébrale intense (Tableau 3). Quelques soient les protocoles d'exposition utilisés, les résultats convergent tous vers la même observation : l'existence d'altérations neurobiochimiques des systèmes sérotoninergiques, caractérisées par une diminution du taux de 5-HT cérébrale (Winslow et Insel, 1990 ; Meyer et al. 2004 ; Meyer et Ali, 2002 ; Koprich et al. 2003), et une diminution de la densité de SERT (Winslow et Insel, 1990 ; Meyer et al. 2004), suggérant l'induction d'une neurotoxicité sérotoninergique.

**Tableau 3 : Conséquences à moyen terme d'une exposition postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.**

Exposition		Observation		
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	Référence
P0-2	10 ; 2x/j ; s.c.	P21	⬇ 5-HT, 5-HIAA et fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans cortex = DA dans cortex	Winslow et Insel, 1990
P1-4	10 ; 2x/j ; s.c.	P25	⬇ fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans hippocampe ⬇ 5-HT dans l'hippocampe = 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC et HVA dans le cortex	Meyer et Ali, 2002
P11-20	20 ; 2x/j ; s.c ;	P21	⬇ 5-HT dans cortex frontal (mâles et femelles), striatum (mâles) et hippocampe (femelles) ↗ 5-HIAA dans striatum, cortex frontal et hippocampe (mâles et femelles) = DA dans striatum et cortex frontal ↗ DOPAC et HVA dans le striatum, cortex frontal et hippocampe	Koprich et al. 2003
P1-4	10 ; 2x/j ; s.c.	P25	⬇ 5-HT dans hippocampe = 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC et HVA dans cortex frontal ⬇ fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans hippocampe ; = dans cortex frontal	Meyer et al. 2004

Aucune modification du taux de DA et de ses métabolites au niveau cortical et striatal n'est observée chez le rat exposé entre P1 et P4 (Winslow et Insel, 1990 ; Meyer et al. 2004). Cependant, une exposition prénatale plus tardive au MDMA augmente la concentration en DOPAC au niveau du striatum et du cortex frontal chez des rats à P21 exposés au MDMA (Koprich et al. 2003). Mais cette modification semble plus être le reflet d'un effet aigu de l'arrêt du traitement, qu'une conséquence à moyen terme.

D'autres modifications neurobiochimiques non monoaminergiques à moyen terme ont aussi été observées dans des modèles d'exposition néonatale au MDMA : une administration chronique au MDMA de P11 à P20 (20mg/kg, deux fois/jour, s.c.) entraîne le jour après l'arrêt du traitement, une augmentation de l'expression de BDNF dans le cortex frontal, l'hippocampe, le striatum et le mésencéphale (Koprich et al. 2003).

#### ***\* A long terme***

D'autres études se sont intéressées aux conséquences à long terme d'une exposition néonatale au MDMA en explorant les paramètres neurobiochimiques chez des individus au stade adulte (Tableau 4). Il est difficile de poser une conclusion tranchée puisque les résultats s'affrontent d'une étude à l'autre. Bien que certaines mettent en évidence une diminution du taux de 5-HT au niveau du cortex frontal et de l'hippocampe chez le rat adulte (Broening et al. 2001 ; Meyer et Ali, 2003 ; Crawford et al. 2006), d'autres ne révèlent aucune modification neurobiochimique au niveau du système sérotoninergique (Cohen et al. 2005 ; Kelly et al. 2002 ; Piper et Meyer, 2006). De plus, sur trois études s'intéressant aux systèmes dopaminergiques (Broening et al. 2001 ; Meyer et Ali, 2002 ; Crawford et al. 2006), une seule met en évidence une diminution du taux de DA dans le striatum et le cortex de rat adulte mâles exposés au MDMA de P11 à P20 (Crawford et al. 2006).

**Tableau 4 : Conséquences à long terme d'une exposition postnatale au MDMA sur les systèmes monoaminergiques.**

Exposition		Observation		
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	Référence
P1-10 ou P10-20	5, 10 ou 20 ; 2x/j ; s.c.	P70	groupe P1-10 : ↓ 5-HT (toutes doses) et NE (10 et 20 mg/kg) dans hippocampe = 5-HT, DA et NE dans cortex frontal groupe P10-20 : ↓ 5-HT et NE (toutes doses) dans hippocampe ↓ 5-HT dans cortex frontal = DA et NE dans cortex frontal	Broening et al. 2001
P1-4	10 ; 2x/j ; s.c.	P60	↓ fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans hippocampe et cortex ↓ 5-HT dans l'hippocampe = 5-HT, 5-HIAA, DA, DOPAC et HVA dans le cortex	Meyer et Ali, 2002
P10, 15, 20 ou P10-13	20 ; 2x/j ; s.c.	P40	= densité de SERT = capture de <sup>3</sup> H-paroxétine (toutes expositions)	Kelly et al. 2002
P1-4	10 ; 2x/j ; s.c.	P70	↓ fixation de <sup>3</sup> H-paroxétine dans hippocampe et cortex ↗ SERT dans caudé putamen et NAc ; ↓ SERT dans cortex visuel primaire = SERT dans hippocampe, hypothalamus et cortex frontal	Meyer et al. 2004
P11-20	20 ; 2x/j ; s.c.	P90	= 5-HT, 5-HIAA, DA et DOPAC dans striatum et cortex préfrontal	Cohen et al. 2005
P11-20	20 mg/kg ; 2x/j ; s.c.	P90	↓ 5-HT dans hippocampe et cortex préfrontal (mâles et femelles) = 5-HIAA dans hippocampe et cortex préfrontal ↓ DA dans cortex préfrontal et striatum (mâles) = DOPAC dans cortex préfrontal et striatum	Crawford et al. 2006
P1-P4	10 mg/kg ; 2x/j ; s.c.	P70 et P105	= SERT dans cortex et hippocampe (P70 et P105)	Piper et Meyer, 2006

## b. Conséquences comportementales

L'exposition au MDMA de P11 à P20 perturbe l'apprentissage et la mémoire spatiale et séquentielle (Broening et al. 2001 ; Williams et al. 2003 ; Vorhees et al. 2004 ; Cohen et al. 2005 ; Skelton et al. 2006 ; Vorhees et al. 2007), la mémoire procédurale (Williams et al. 2003) et la mémoire de nature d'objet chez l'adulte (Cohen et al. 2005). Ces déficits d'apprentissage et de mémoire à long terme apparaissent à partir de P30 et perdurent jusqu'à un stade avancé (P360) (Skelton et al. 2006). La mémoire de travail, qui correspond à une forme de mémoire à court terme ne semble pas être altérée chez ces mêmes animaux (Vorhees

et al. 2004). Il a été souligné qu'il existait des périodes critiques pour l'action du MDMA sur les fonctions cognitives. En effet, les études opposant les fenêtres d'exposition de P1 à P10 vs P11 à P20, ont révélé qu'une exposition pendant les 10 premiers jours de vie postnataux n'entraînait aucun déficit d'apprentissage, de mémorisation, ni de discrimination (Broening et al. 2001 ; Piper et Meyer 2006) (Tableau 5).

**Tableau 5 : Conséquences comportementales d'une exposition postnatale au MDMA chez le rat. MWM, Morris Water Maze ; CWM, Cincinnati Water Maze.**

Exposition		Observation		Références
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	
P0-2	10 ; 2x/j; s.c.	P5, 8, 11, 14 et 21	↘ vocalises d'ultrasons à P8, 11 et 14	Winslow et Insel, 1990
P1-10 ou P10-20	5, 10 ou 20 ; 2x/j ; s.c.	adulte	pas de trouble moteur groupe P1-10 : = temps et erreurs dans le CWM = distance et temps pour atteindre plateforme immergée dans MWM pendant acquisition = croisement sur emplacement plateforme pendant phase de test (5, 10 et 20 mg/kg)  groupe P10-20 : ↗ temps et erreurs dans le CWM (10 et 20 mg/kg) ↗ distance et temps dans MWM pendant acquisition ↘ croisement sur emplacement plateforme pendant phase test (5, 10 et 20 mg/kg)	Broening et al. 2001
P11-20	20 ; 2x/j; s.c.		pas de troubles moteurs ↗ temps et erreurs dans le CWM ↗ distance et temps pour atteindre plateforme immergée dans MWM pendant acquisition = distance et temps pour atteindre une plateforme associée à un objet	Williams et al. 2003
P11-20	5, 10 ou 20 ; 2x/j ; s.c.	adulte	↗ temps, distance parcourue dans MWM = mémoire de travail	Vorhees et al. 2004
P11-20	20 ; 2x/j; s.c.	adulte	↗ temps et distance dans MWM pendant acquisition ↗ erreurs dans CWM ↘ temps d'intérêt pour nouvel objet ↘ activité de locomotion	Cohen et al. 2005
P1-P4	10 mg/kg ; 2x/j ; s.c.	adulte	= discrimination et mémoire d'objets	Piper et Meyer, 2006
P11-20	20 ; 2x/j; s.c.	P30, 40, 180 et 360	↗ temps et erreurs dans CWM à P30, P40 = temps et erreurs dans CWM à P180, P360 ↗ temps et distance pour atteindre plateforme immergée dans MWM pendant acquisition à tout âge ↘ temps dans quadrant où était localisée la plateforme	Skelton et al. 2006
P11-20	40 ; en 1, 2 ou 4 inj/j; s.c.	adulte	↗ temps et erreurs dans CWM, groupes 1 et 2 inj./jours = temps et erreurs dans CWM, groupes 4 inj./jours ↗ temps et distance dans MWM pendant acquisition, groupe 2 et 4 inj./jour	Vorhees et al. 2007

Ainsi, de toutes les études qui sont intéressées à la période d'exposition néonatale, il ressort que l'exposition au MDMA à un stade précoce du développement postnatal chez le rat entraîne des altérations des systèmes sérotoninergiques, caractérisées principalement par une diminution des taux de 5-HT. Ces altérations sont détectées dès les premières heures après l'exposition, et restent présentes jusqu'au stade adulte. L'hippocampe semble être la structure la plus touchée. En parallèle, des troubles de l'apprentissage et de la mémoire à long terme, qui représentent des processus cognitifs très dépendants de la fonction hippocampale, sont observés chez les rats adultes exposés au MDMA. Bien que très peu d'étude n'ait caractérisé le système dopaminergique, il semble être peu sensible aux effets du MDMA administré au cours des premiers jours de vie postnataux. Quelques modifications ponctuelles du taux de DA au niveau striatal et cortical ont cependant été mises en évidence ; ce qui justifierait la conduite d'études supplémentaires.

## **2. Exposition prénatale au MDMA**

Les études d'exposition prénatale au MDMA chez le rat modélisent une exposition foetale précoce chez l'humain, correspondant à la première moitié de la grossesse. La plupart des femmes ayant consommé de l'ecstasy pendant leur grossesse, témoignent qu'elles ont stoppé leur consommation dès la connaissance de leur état (Ho et al. 2001). Ainsi, et bien que peu nombreux, les protocoles expérimentaux d'exposition pendant cette fenêtre de développement chez le rat représentent un modèle adapté à la majorité des expositions fœtales chez l'humain.

### **a. Conséquences sur les systèmes sérotoninergiques**

Les conséquences d'une exposition au MDMA au cours de la période prénatale sur les systèmes sérotoninergiques semblent être moins importantes que suite à une exposition postnatale, puisque la majorité des études n'a pas montré de modification neurobiochimique à court ou moyen terme (Tableau 6). En effet, aucune modification des taux de 5-HT et de 5-HIAA quantifiés dans le télencéphale à P7, dans l'hippocampe et le striatum à P15 et dans le cortex à P15 et P21, n'a été mis en évidence chez la progéniture après une exposition prénatale au MDMA (Winslow et Insel, 1990 ; Colado et al. 1997 ; Aguirre et al 1998). De

même, la densité de SERT ne semble pas être modifiée chez la progéniture à des stades de développement précoce et tardif (Kelly et al. 2002 ; Galineau et al. 2005).

Trois études ont cependant souligné des modifications des systèmes sérotoninergiques suite à l'exposition prénatale au MDMA chez le rat. Ces modifications sont caractérisées par une réduction du taux de 5-HT dans le noyau caudé et l'hippocampe chez la progéniture à P21 (StOmer et al. 1991), une diminution du turn-over sérotoninergique dans le striatum et le NAc (Koprich et al. 2003), et une très forte réduction du pic physiologique cérébral de 5-HT et de 5-HIAA à la naissance (Galineau et al. 2005).

A ce jour, une seule étude s'est intéressée aux conséquences neurobiochimiques à long terme (stade adulte) d'une exposition prénatale au MDMA. Elle a montré une diminution du taux de 5-HT vésiculaire libérée sous stimulation pharmacologique au niveau de l'hippocampe (Galineau et al. 2005).

**Tableau 6 : Conséquences d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes sérotoninergiques chez le rat.**

Exposition		Observation		
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	Référence
E12-14	10; 2x/j; s.c.	P21	= 5-HT, 5-HIAA et fixation <sup>3</sup> H-paroxétine	Winslow et Insel, 1990
E6-18	2,5 ou 10 ; per os	P21	= 5-HT et 5-HIAA dans cortex fonal, noyau caudé, hippocampe, cervelet (2,5 mg/kg) ⬇ 5-HT dans noyau caudé et hippocampe (10 mg/kg)	St Omer et al. 1991
E14-17	20; 2x/j ; s.c.	P7	= 5-HT et 5-HIAA dans télencéphale	Colado et al. 1997
E6-20	20; s.c.	P15	= 5-HT dans hippocampe, cortex frontal, striatum et hypothalamus	Aguirre et al. 1998
E15-18	20; 2x/j ; s.c.	P40	= densité de SERT	Kelly et al. 2002
E14-20	15 ; 2x/j ; s.c ;	P3 et P21	= 5-HT dans hippocampe, cortex frontal, striatum (P3 et P21) ⬇ 5-HIAA dans striatum et noyau accumbens (P21)	Koprich et al. 2003
E13-20	10; s.c.	E14, 16, 18, 20. P0, 7, 14, 21, 70	⬇ taux cérébral 5-HT et 5-HIAA à P0, pas aux autres stades = fixation du [ <sup>3</sup> H]-MADAM au SERT dans raphé, hypothalamus, thalamus, hippocampe et cortex ⬇ taux vésiculaire de 5-HT dans l'hippocampe (P70)	Galineau et al. 2005

## b. Conséquences sur les systèmes dopaminergiques

Les études concernant les effets d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes dopaminergiques ne sont pas nombreuses, et leurs résultats peu homogènes (Tableau 7). Les premières n'ont révélé aucune altération des taux de DA ni de ses métabolites au niveau du télencéphale et diencéphale de la progéniture à P7 et P15 (Colado et al. 1997 ; Aguirre et al. 1998). Koprach et son équipe ont été les premiers à montrer des altérations neurobiochimiques chez le jeune rat, caractérisées par une diminution de DOPAC et de HVA au niveau du striatum, associée à une augmentation de la densité de fibres TH+ au niveau de différentes zones des projections dopaminergiques (Koprach et al. 2003). Avec une dose journalière de MDMA inférieure, ces modifications ne sont plus observées chez le jeune rat (Galineau et al. 2005). La seule étude s'intéressant aux conséquences au stade adulte a montré grâce à des techniques de microdialyse intracérébrale, une diminution la DA vésiculaire libérée sous stimulation pharmacologique (tyramine) au niveau du striatum, chez la progéniture exposée en prénatal au MDMA (Galineau et al. 2005).

**Tableau 7 : Conséquences d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes dopaminergiques chez le rat.**

Exposition		Observation		
Période	Dose (mg/kg) et voie	Période	Conséquences	Référence
E14-17	20 ; 2x/j ; s.c.	P7	= DA, DOPAC et HVA dans télencéphale	Colado et al. 1997
E6-20	20 ; s.c.	P15	= DA dans striatum et hypothalamus	Aguirre et al. 1998
E14-20	15 ; 2x/j ; s.c ;	P3 et P21	↓ HVA à P3 et P21 dans striatum ↓ DOPAC à P21 dans striatum ↑ des fibres TH+ dans CPF, striatum et NAc à P21	Koprach et al. 2003
E13-20	10 ; s.c.	E14, 16, 18, 20. P0, 7, 14, 21, 70.	= taux cérébral de DA, DOPAC et HVA (tous stades) = fixation du [ <sup>125</sup> I]-PE2I au DAT dans l'hypothalamus, le thalamus, l'hippocampe et le cortex (tous stades) ↓ taux DA vésiculaire dans le striatum (P70)	Galineau et al. 2005

## c. Conséquences comportementales

Des études comportementales et sensorimotrices ont été menées chez la progéniture en développement, exposée en période prénatale au MDMA. Là encore, les protocoles d'exposition étant variés, les résultats sont difficiles à mettre en relation. A P9, les animaux exposés entre E12 et E14 ne présentent pas de différence avec les animaux témoins en termes

d'activité locomotrice, de vocalise d'ultrasons, et de performances sensorimotrices (Winslow et Insel, 1990). Cependant, les animaux exposés au MDMA sur une période plus longue (de E6 à E18), montrent des déficits des fonctions sensorimotrices entre P7 et P10, mis en évidence par les tests de géotaxie négative et d'orientation olfactive. Cependant, des tests évaluant d'autres paramètres sensorimoteurs, ne montrent pas d'effet (St Omer et al. 1991). Une dernière étude a mis en évidence chez le rat à P21, exposé au MDMA entre E14 et E20, une diminution de l'activité de locomotion pendant les 5 premières minutes d'exploration d'un nouvel environnement, suivie d'une augmentation par rapport aux animaux témoins sur le reste de la session. Ces derniers résultats suggèrent un déficit du processus d'habituation à un nouvel environnement entraîné par l'exposition prénatale au MDMA (Koprach et al. 2003).

Des troubles comportementaux à long terme, c'est-à-dire au stade adulte, consécutifs à une exposition prénatale au MDMA ont été observés dans deux études. La plus récente (Thompson et al. 2009) a montré une diminution du comportement d'anxiété, une augmentation de la réponse comportementale à la nouveauté, et une augmentation de la persévérance dans l'usage de stratégie pour résoudre une tâche de mémoire spatiale, chez des rats adultes exposés de E14 à E20 au MDMA. La deuxième étude réalisée dans notre laboratoire a montré chez l'animal adulte (P70) exposé au MDMA entre E13 et E20, une diminution de la préférence naturelle au saccharose. Ce déficit comportemental pourrait refléter une diminution de la perception sucrée, une altération de la motivation pour obtenir une récompense, un symptôme anhédonique, ou encore un déficit du comportement dirigé vers un but (Galineau et al. 2005).



### **III. Effets d'une exposition au MPH sur le cerveau en développement**

#### ***A. Exposition au MPH pendant la période juvénile***

##### **1. Chez l'Homme**

Les psychostimulants sont les molécules les plus efficaces dans le traitement des TDAH (Spencer et al. 1996 ; Taylor et Russo 2001). Malgré la difficulté de poser le diagnostic de cette maladie, elle toucherait plus de 10% des enfants (Swanson et al. 1998). Le MPH est le psychostimulant le plus prescrit. En 2006, 5 millions d'américains se sont vu prescrire du MPH, dont 3,5 âgés de moins de 19 ans (Greydanus et al. 2007). Toujours au Etats-Unis, 1,2% des enfants de moins de 6 ans sont traités au MPH (Zito et al. 2000). Bien que la littérature, avec plus de 200 protocoles d'études cliniques, démontre une efficacité et une absence de dangerosité du MPH consommé dans le cadre médical chez les enfants, les potentielles conséquences neurobiochimiques et comportementales à long terme induites par le traitement au MPH de l'enfant restent peu explorées. Cependant, il a été montré que les enfants traités au MPH n'étaient pas plus enclins à l'auto-administration de MPH que les sujets ayant reçus des placebos (Murray et Kollins 2000 ; Mannuzza et al. 2003). De plus, il a été observé que les jeunes adolescents TDAH non traités au MPH ont deux fois plus de risques de développer des addictions aux drogues (Biederman et al. 1999 ; Wilens et al. 2003), suggérant que le MPH réduit le risque de dépendance chez ces jeunes.

Toutefois, l'absence d'effets néfastes suite à une administration chronique de MPH est controversée, puisqu'une étude a mis en évidence une augmentation du risque de développer une addiction aux drogues suite au traitement thérapeutique au MPH chez l'adolescent (Lambert et Hartsough 1998). De plus, dans un cadre de consommation illégale, les capsules de MPH sont ouvertes et le contenu est souvent consommé par voie intranasale. Cette forme de consommation entraîne une entrée de la molécule beaucoup plus rapide et forte dans le cerveau, par rapport à la prise *per os*. Les conséquences de ce type de consommation abusive pourraient donc être différentes de celles pouvant être observées dans le cadre thérapeutique. Elles restent non étudiées.

## 2. Chez le rongeur

Les études réalisées chez le rongeur jouent un rôle important dans l'appréhension des potentiels risques à long terme associés à un traitement chronique au MPH chez l'enfant ou l'adolescent. Chez l'animal, la préadolescence est une période qui s'étire approximativement de P20 à P35. De façon consensuelle, il est établi que le rat rentre en puberté (dans l'adolescence) au alentour de son 40<sup>ème</sup> jour de vie postnatale.

**Tableau 8 : Conséquences à moyen terme d'une exposition chronique au MPH pendant la période de préadolescence.**

Exposition			Observation		
Période	Espèce	Dose (mg/kg/j)	Période	Conséquences	Référence
P 25-38	Rat	10	P38	↓ c-fos dans le striatum ↑ c-fos dans le NAc et cortex ↑ Fos-B dans le striatum	Chase et al. 2005
P 25-38	Rat	2 ou 10	P38	↓ taux d'activation des protéines régulant le cytosquelette (désensibilisation) = taux de BDNF	Chase et al. 2007
P 22-60	Rat	3	P40 et P60	↑ apprentissage et mémoire spatiale	Zhu et al. 2007 Dow-Edwards et al. 2008
P 26-32	Souris	40	P33-37	↓ comportement d'anxiété (+maze) ↑ activité d'exploration = apprentissage spatial	Carrey et al. 2000
P 26-32	Souris	2,5 à 80	P33-37	= comportement d'exploration, d'anxiété et de stress	McFayden et al. 2002
P 26-30	Rat	1	P31	↓ comportement social	Vanderschuren et al. 2008

L'exposition chronique au MPH pendant la période juvénile induit des modifications à moyen terme (Tableau 8) dans différentes structures cérébrales, de l'expression de facteurs de transcription (Chase et al. 2005, 2007), dont Fos-B qui est impliqué dans les processus de neuroplasticité (Kelz et Nestler 2000 ; McClung et al. 2004). De plus, des modifications comportementales sont observées chez les rats adolescents exposés en période juvénile au MPH (Zhu et al. 2007 ; Dow-Edwards et al. 2008 ; Carrey et al. 2000 ; McFayden et al. 2002 ; Vanderschuren et al. 2008). Cependant, le manque d'uniformité des résultats de ces différentes études ne permet pas de conclure sur les conséquences fonctionnelles des modifications biochimiques induites à moyen terme par le traitement chronique au MPH. Les

études s'intéressant aux conséquences à long terme, sont plus nombreuses, mais non moins hétérogènes (Tableau 9).

**Tableau 9 : Conséquences à long terme d'une exposition chronique au MPH pendant la période de préadolescence.**

Exposition			Observation		Références
Période	Espèce	Dose (mg/kg/j)	Période	Conséquences	
P 20-35	Rat	2 (2/j)	P90	⬇ neurogénèse hippocampale	Lagace et al. 2006
P 20-35	Rat	2	P80	↗ volume sanguin cérébral au niveau du cortex et du thalamus ⬇ RD3 ARNm dans le cortex	Andersen et al. 2008
P 30-90	Rat	1	P90	⬇ densité RD2 au niveau du striatum	Thanos et al. 2007
P 30-60	Gerbille	5	P90	= densité fibres dopaminergiques - prévient des troubles de connectivité synaptique corticale entraînés par la méthamphétamine	Grund et al. 2007
P 25-38	Rat	2 ou 10	P60	⬇ taux d'activation des protéines régulant le cytosquelette (désensibilisation) = taux de BDNF	Chase et al. 2007
P 20-35	Rat	2	P90	⬇ réponse aux stimuli appétitifs	Bolanos et al. 2008
P 35- 42	Rat	2	P70	↗ autoadministration de cocaïne ↗ réponse locomotrice à la cocaïne (sensibilisation)	Brandon et al. 2001
P 20-35	Rat	2	P90	⬇ conditionnement de lieu à la cocaïne ⬇ préférence au sucre ↗ comportement d'anxiété et de stress (+- maze, nage forcée)	Wiley et al. 2008
P 21-25 ou 45-50	Rat	10	P90	↗ réponse locomotrice à la cocaïne (sensibilisation)	Torres-Reveron et Dow-Edwards, 2005
P 25-39	Rat	2	P80	↗ comportement d'anxiété (réaction émotionnelle conditionnée)	Britton et al. 2007
P 20-35	Rat	2	P60	⬇ conditionnement de lieu à la cocaïne ↗ comportement d'anxiété (nage forcée) ⬇ processus d'habituation	Carlezon et al. 2003
P 20-35	Rat	2	P60	⬇ auto-administration à la cocaïne	Mague et al. 2005
P 20-35	Rat	2	P60	⬇ conditionnement de lieu à la cocaïne	Andersen et al. 2002

Les résultats comportementaux d'études réalisées sur des rats adultes exposés de façon répétée pendant la période juvénile au MPH semblent contradictoires. Par exemple, certaines études ont rapporté que l'administration de MPH pendant l'adolescence entraîne chez les rats adultes une sensibilisation comportementale à la cocaïne (Brandon et al. 2001 ; Torres-Reveron et Dow-Edwards, 2005) et facilite son autoadministration (Brandon et al. 2001). Ces résultats suggèrent que le traitement au MPH induit une plus grande vulnérabilité des systèmes de récompense à des stimuli appétitifs. A l'inverse, d'autres études ont montré que les rats adultes ayant été exposés au MPH pendant la période juvénile, présentent une réduction des effets appétitifs de la cocaïne dans le test de conditionnement de lieu (Andersen et al. 2002 ; Carlezon et al. 2003) et d'autoadministration (Mague et al. 2005). De plus, les rats traités au MPH montrent une diminution des effets récompensants de stimuli naturels (comme le saccharose, les situations nouvelles et le comportement sexuel) et présentent un comportement d'anxiété augmenté associé à des comportements de type dépressif par rapport aux rats témoins (Bolanos et al. 2008, Wiley et al. 2008 ; Britton et al. 2007 ; Carlezon et al. 2003). Malgré les inconsistances entre ces études, très certainement dues à des différences de méthodologie, il est clair que le traitement au MPH pendant la période juvénile induit chez le rat des altérations neurobiologiques à long terme, apparentées au système de récompense et à l'émotion (Anderson et al. 2002 ; Adriani et al. 2006)

## ***B. Exposition périnatale au MPH***

### **1. Chez l'Homme**

Une étude clinique rétrospective a été menée pour évaluer les effets de l'abus de MPH par administration intraveineuse pendant la grossesse, sur les nouveau-nés, suivis sur deux ans. La conclusion des auteurs est que l'exposition intra-utérine de MPH entraînerait une augmentation de risque de naissances prématurées et de retards de croissance, mais n'aurait pas d'effet tératogène ni n'entraînerait de sévères retards mentaux (Debooy et al. 1993). Bien que la consommation de MPH chez les jeunes adultes en âge de procréer ne cesse d'augmenter et que par conséquent le risque d'exposition prénatale au MPH tend lui aussi vers l'augmentation, aucune étude clinique n'a été publiée à ce sujet depuis 1993.

## **2. Chez le rongeur**

Comme il été décrit dans la partie MDMA, la période de vie prénatale chez l'Homme englobe toute la vie fœtale et les trois première semaine de vie postnatale chez le rongeur. Même si certains considèrent modéliser une exposition de l'enfant de 2-4 ans en administrant le MPH de P11 à P21 à des rats (Crawford et al. 2007), il est admis qu'en terme de développement cérébral, cette période correspond plutôt aux derniers mois de grossesse chez l'Homme (Bayer et al. 1993 ; Rice et Barone, 2000 ; Clancy et al. 2001, 2007).

### **a. Exposition périnatale au MPH**

Chez la souris, l'administration quotidienne de MPH (2, 6 ou 20 mg/kg/j) à des femelles gestantes puis lactantes, de E7 à P21, ne semble pas exercer d'effet tératogène sur la progéniture en développement, ni de toxicologie de la reproduction au stade adulte (Teo et al. 2002).

Chez le rat, une administration unique de MPH (10 mg/kg) à P11 entraîne 24 h après, une diminution de 5-HT tissulaire au niveau du striatum, mais pas au niveau de l'hippocampe. Les taux de DA ne sont modifiés dans aucune des deux structures (Schaefer et al. 2006).

Jusqu'à aujourd'hui, quatre études se sont intéressées aux conséquences à court et long terme d'une exposition chronique au MPH au cours de la période néonatale chez le rongeur. La première a montré que l'administration répétée de MPH de P3 à P11 entraîne une augmentation de l'activité de locomotion, mais n'induit pas de trouble du développement moteur, ni du comportement d'anxiété chez la souris pendant la durée du traitement (Penner et al. 2001). Chez le rat, il a été mis en évidence une baisse persistante de la densité de DAT au niveau du striatum (pas dans le mésencéphale) chez le rat adolescent et adulte exposé de P11 à P20 au MPH (Moll et al. 2001). Une autre étude a montré chez le rat, que l'administration répétée de MPH (5 mg/kg, deux fois par jour) de P7 à P35, entraîne des modifications structurales des systèmes de neurotransmission monoaminergique à court terme. Ces modifications observées à P35 sont caractérisées par une augmentation de la densité des fibres catécholaminergiques et de la densité cellulaire au niveau du CPF, une diminution de la densité des fibres TH+ au niveau du striatum, et une modification de la densité des fibres monoaminergiques TH+ et NET+ au niveau de l'hippocampe. Au stade adulte, la majorité de

ces modifications structurales n'est plus retrouvée, cependant des troubles du comportement d'anxiété sont relevés (Gray et al. 2007). La dernière étude a montré que l'exposition au MPH de P11 à P20 induit une augmentation des effets appétitifs de la cocaïne et du saccharose chez le rat au stade adulte, suggérant des troubles des systèmes de la récompense (Crawford et al. 2007).

Ces données obtenues chez le rongeur suggèrent donc que l'administration de MPH à un stade précoce du développement entraîne des modifications cérébrales neurobiochimiques et structurales à court terme, qui semblent en partie, se résorber avec l'âge (Gray et al. 2007), mais aussi des conséquences neurologiques et comportementales à moyen et long terme. Des études complémentaires sont cependant nécessaires pour mieux définir ces conséquences induites par une exposition périnatale au MPH.

## **b. Exposition prénatale au MPH**

Dans de récentes études, il a été montré que le MPH présente des effets tératogènes chez le lapin à des doses de 200 mg/kg/jour, ce qui correspond à des doses environ 100 fois supérieures aux doses recommandées et prescrites chez l'Homme. Chez le rat, aucun effet tératogène n'est observé quand le MPH est administré à une dose de 75 mg/kg/jour, qui correspond pourtant à une dose plus de 10 fois supérieure à celle préconisée (Teo et al. 2003 ; Beckman et al. 2008).

Il n'existe actuellement qu'une seule étude, qui s'est intéressée aux conséquences comportementales à long terme d'une exposition prénatale au MPH. Il y est montré que l'administration de MPH (5 mg/kg/j) à des souris du 8<sup>ème</sup> au 10<sup>ème</sup> jour de gestation entraîne une diminution du comportement d'anxiété et une augmentation de l'activité d'exploration chez la progéniture adulte. Cependant, ces troubles comportementaux ne sont plus retrouvés quand le MPH est administré pendant des périodes plus tardives de la gestation (McFadyen-Leussis et al. 2004). Aucune autre donnée n'est à ce jour disponible sur l'effet d'une exposition exclusivement prénatale au MPH sur le développement neurobiochimique et fonctionnel cérébral chez le rongeur.

---

# OBJECTIFS

---





Le développement cérébral est un processus complexe et il a été suggéré que des perturbations de ce développement pourraient augmenter le risque de survenue de maladies neuropsychiatriques comme la schizophrénie, l'addiction ou la dépression. Ce processus est influencé par des facteurs endogènes et exogènes comme l'exposition à des toxiques. Parmi les facteurs environnementaux, la consommation de drogues psychoactives représente un problème majeur de santé publique. D'après l'Organisation Mondiale de la Santé, sur 185 millions de personnes prenant des drogues entre 1998 et 2001, 33 millions ont consommé des dérivés amphétaminiques. Il est clairement établi que la population des jeunes adultes en âge de procréer est la plus susceptible à l'abus de drogues. Il y a donc un risque fort d'exposition du fœtus à ces drogues et il est essentiel de connaître les risques consécutifs à ces expositions sur le fonctionnement cérébral à long terme. Il existe des données concernant les effets de l'exposition prénatale à certaines substances exogènes sur les fonctions cérébrales de la progéniture, telles que l'alcool et la nicotine, mais peu d'informations sont à ce jour disponibles sur les effets de psychostimulants, tels que le 3,4-méthylènedioxyméthamphétamine (MDMA ou ecstasy) dont la consommation est en augmentation constante depuis plus de 10 ans, et le méthylphénidate (MPH), molécule prescrite dans le traitement des troubles déficitaires attentionnels et d'hyperactivité (TDAH), et de plus en plus consommée de façon illicite.

Le MDMA et le MPH ont en commun d'induire des effets directs sur les systèmes de neurotransmission dopaminergiques et/ou sérotoninergiques (Gudelsky et Yamamoto 2008 ; Gatley et al. 1996 ; Challman et Lipsky 2000). Ces deux systèmes apparaissent très tôt au cours de la vie embryonnaire et ont un rôle majeur dans le développement cérébral (Spencer et al. 1998 ; Nguyen et al. 2001, Herlenius et Lagercrantz 2001, Whitaker-Azmitia 2001). Ainsi, l'exposition prénatale à ces deux molécules, via leurs actions sur les systèmes monoaminergiques, peut perturber le développement et entraîner des conséquences à court et long terme sur le fonctionnement cérébral.

Les études réalisées chez l'Homme se confrontent à un problème majeur d'interprétation car plusieurs facteurs de risques coexistent en général au sein d'une population donnée, tels qu'un milieu socioprofessionnel défavorable, la prise de drogues, de tabac, d'alcool... Dans ce contexte, le recours à un modèle animal peut permettre de mieux comprendre les effets spécifiques de chaque facteur de risque. Ainsi, dans ce travail de thèse, nous avons cherché à objectiver les effets de l'administration de MDMA ou de MPH à la rate gestante sur la maturation et le fonctionnement des systèmes de neurotransmission

dopaminergiques de la progéniture, en évaluant l'intégrité neurobiochimique des neurones dopaminergiques, certains aspects moléculaires et certaines conséquences comportementales des modifications observées.

Les psychostimulants (MDMA et MPH) ont été administrés à des rates du 13<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour de gestation. Cette période chez le rat représente un modèle d'exposition chez l'Homme correspondant à la première moitié de grossesse en terme d'apparition et de maturation des systèmes monoaminergiques. La majorité des femmes ayant consommé de l'ecstasy pendant leur grossesse témoignent qu'elles ont stoppé leur consommation dès la connaissance de leur état. Ainsi, l'exposition pendant cette fenêtre de développement chez le rat représente un modèle adapté de la majorité des expositions fœtales chez l'humain.

L'évaluation des troubles neurobiochimiques des systèmes dopaminergiques a été réalisée sur la progéniture mâle et femelle adulte exposée en période prénatale au MDMA ou au MPH. La neurotransmission dopaminergique est un processus complexe régulé de façon dynamique par différents facteurs moléculaires impliqués dans la synthèse, le stockage, la libération, la recapture de la DA, ainsi que dans l'activation postsynaptique. Ainsi, l'évaluation de l'expression ou de la densité de la TH, du DAT, du VMAT2, des RD1 et RD2, nous a servi d'outil pour apprécier l'état qualitatif et quantitatif des neurones dopaminergiques tant au niveau des corps cellulaires (SNc et ATV) que des projections (Striatum, NAc et CPF) des neurones des voies nigrostriée et mésocorticolimbiques. De plus, par une technique dynamique réalisée chez l'animal vigile, le taux de DA vésiculaire a été évalué par l'utilisation stéréotaxique en double implantation de sondes de microdialyse au niveau du CPF et du NAc, sites de projections des voies mésocorticolimbiques.

De plus, nous avons effectué une démarche de compréhension des causes des modifications observées sur la progéniture exposée au MDMA en période prénatale. Pour tenter d'expliquer les atteintes neuronales des voies dopaminergiques, nous nous sommes intéressés à certains processus impliqués dans la neurogénèse et dans la survie des neurones dopaminergiques. Ainsi, nous avons évalué la prolifération cellulaire chez la progéniture exposée en prénatal au MDMA, au cours du développement et au stade adulte, ainsi que l'expression d'un facteur neurotrophique, le BDNF, très impliqué dans le maintien des neurones dopaminergiques.

Enfin, nous avons cherché à évaluer si les troubles neurobiochimiques décrits avaient une relevance fonctionnelle. Nous nous sommes intéressés tout particulièrement au

comportement de récompense ayant pour substrat neurologique les voies mésocorticolimbiques du système dopaminergique. Ce comportement a été testé chez la progéniture adulte exposée en période prénatale au MDMA, dans le paradigme de la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne, dans lequel la réponse comportementale associée à la prise répétée de cocaïne nous donne un indice de la fonctionnalité de ces voies.



---

# MATERIELS ET METHODES

---



# **I. Animaux et protocoles**

## ***A. Animaux***

Les femelles gestantes de souche Wistar (CERJ, Le Genest, France), arrivées au laboratoire à 6 jours de gestation, sont hébergées dans des cages individuelles de 40 cm X 24 cm X 18 cm et ont libre accès à la nourriture et à l'eau. La salle est maintenue à une température ambiante de  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , une hygrométrie de  $40 \pm 5\%$ , et est sous alternance lumière/obscurité de 12 heures, en phase non inversée.

La durée de gestation des rats est de 21-22 jours. On considère le jour de la mise bas comme le premier jour de vie postnatal (P1). A ce stade, on relève le nombre de petits par portée et leur sexe. Des remaniements de portée sont réalisés si nécessaires : elles sont homogénéisées à 10-11 petits. Les animaux replacés chez une autre mère sont marqués. La progéniture est pesée tous les 2-3 jours jusqu'au sevrage (P21). Les mères sont alors retirées et les petits sont rassemblés par 2 ou 3 du même sexe et de même portée par cage, dans les mêmes conditions d'hébergement que décrit précédemment.

Il est important de noter que l'unité statistique de chaque expérience est la portée, c'est à dire que l'on utilise un mâle et une femelle par portée et par expérience.

## ***B. Protocoles d'exposition***

Les expérimentations ont été réalisées en accord avec les directives européennes (86/609/EEC) et le comité régional d'éthique en expérimentation animale (CREEA n° INSERM37-003). Les rates gestantes sont exposées de façon chronique au ( $\pm$ )-3,4-méthylènedioxyméthamphétamine HCl (MDMA) ou au D-thréo-méthylphénidate HCl (MPH) (Sigma-Aldrich, St Quentin-Fallavier, France). Ces produits sont injectés par voie sous cutanée à raison de 1ml/kg, tous les jours et à heure fixe. Le point d'intromission de l'aiguille au niveau de la nuque est différent chaque jour afin de minimiser l'irritation due au traitement chronique. Les rates gestantes témoins sont injectées avec du liquide physiologique (solution de dilution des produits), à volume équivalent et dans les mêmes conditions. Les rates gestantes sont pesées tous les jours avant administration des produits.

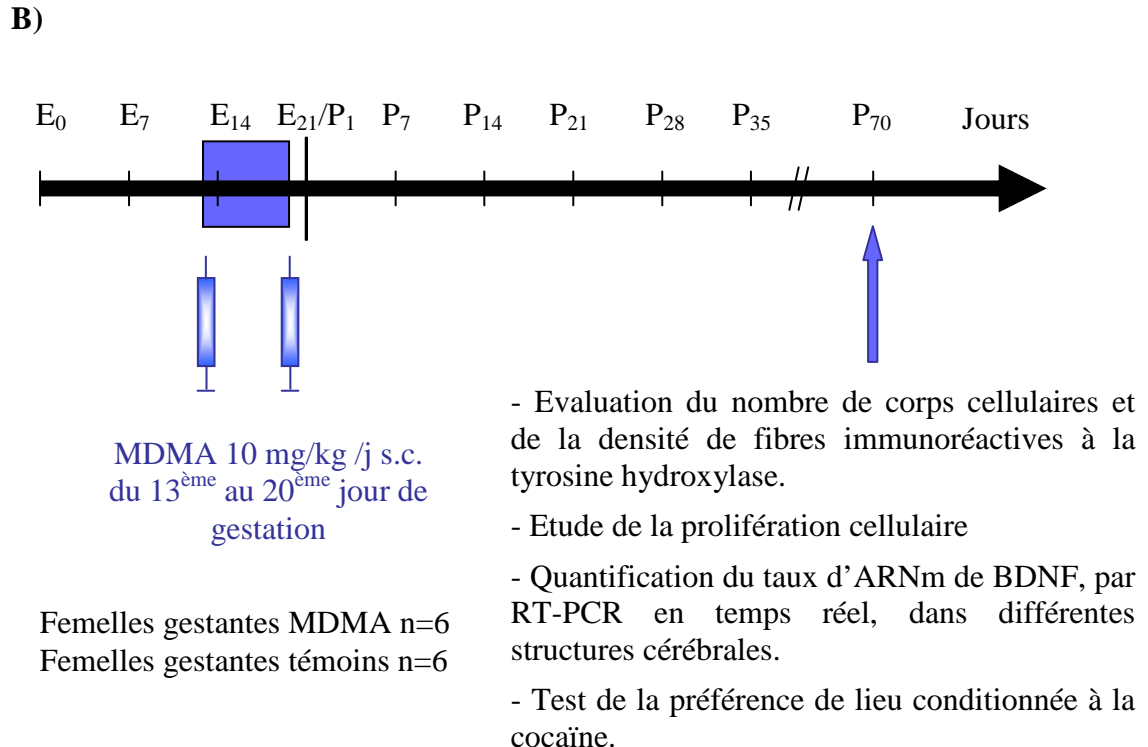
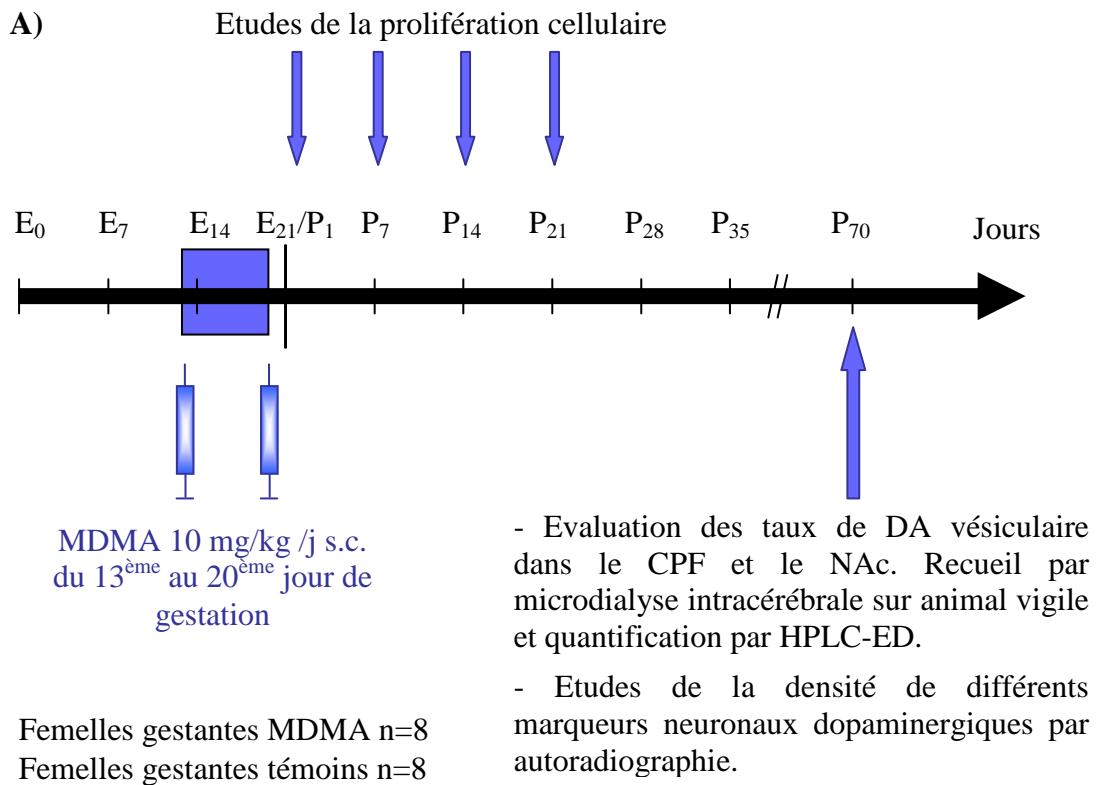
## 1. Exposition prénatale au MDMA

Les expositions au MDMA sont réalisées du 13<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour de gestation. Le MDMA est injecté aux rates gestantes à la dose de 10 mg/kg. Selon la formule du « interspecies scaling » de Mordenti et Chappell, qui prend en compte les différences métaboliques entre l'homme et le rat (Mordenti et Chappell 1989) :  $Dose_{\text{homme}} = Dose_{\text{animal}} \times (Poids_{\text{homme}} / Poids_{\text{animal}})^{0,7}$ , la dose de 10 mg/kg administrée à des femelles rats pesant entre 300 et 380g pendant la période d'exposition, correspond à une quantité de MDMA comprise entre 122 et 131 mg, consommée par une femme de poids corporel de 60 kg. Sachant qu'un comprimé d'ecstasy contient entre 80 et 150 mg de MDMA (Kalant 2001), la quantité de MDMA administrée chez la femelle rat gestante modélise approximativement une consommation journalière d'un comprimé chez la femme.

La température corporelle est relevée avant et une heure après l'injection à l'aide d'une sonde rectale, afin de contrôler les potentielles dysrégulations de température corporelle que peut entraîner le MDMA (Green et al. 2004).

Deux protocoles d'exposition au MDMA ont été réalisés pour les besoins des travaux expérimentaux. Les différentes études réalisées sur la progéniture sont schématisées sur ces deux axes chronologiques (Figure 16).



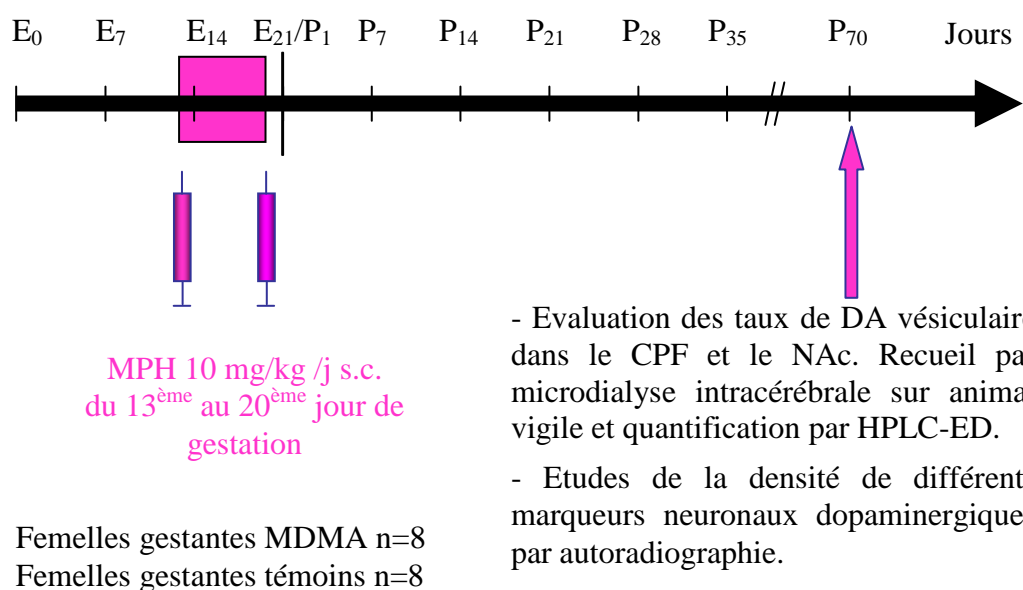


**Figure 16 : Protocoles d'exposition au MDMA sur les rates gestantes et études réalisées sur la progéniture.**  
DA, dopamine ; NAc, noyau accumbens ; CPF, cortex préfrontal.

## 2. Exposition prénatale au MPH

Les expositions au MPH sont réalisées du 13<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour de gestation. Le MPH, dissous dans du sérum physiologique, est injecté aux rates gestantes à la dose de 10 mg/kg. Cette exposition modélise une forme de consommation abusive. En effet, la dose choisie et administrée chez le rat correspond à une dose d'environ 2 mg/kg chez une femme de poids corporel de 60 kg, selon la formule du « interspecies scaling » de Mordenti et Chappell (1989). Dans un cadre de consommation illicite, les quantités absorbées de MPH sont supérieures à celles prescrites dans le cadre du traitement des TDAH pour lequel la dose maximale prescrite est de 1 mg/kg.

Les différentes études réalisées sur la progéniture au stade adulte sont schématisées dans la Figure 17.



**Figure 17 : Protocole d'exposition au MPH sur les rates gestantes et études réalisées sur la progéniture adulte.** DA, dopamine ; NAc, noyau accumbens ; CPF, cortex préfrontal.

## II. Etudes réalisées sur la progéniture

### ***A. Microdialyse intracérébrale au niveau du cortex préfrontal et du noyau accumbens***

La microdialyse intracérébrale sur animaux vigiles permet une approche dynamique de la neurotransmission dans des conditions proches des conditions physiologiques. Elle va permettre la quantification des concentrations en DA libérée en conditions basales, puis après stimulation pharmacologique. La stimulation pharmacologique de la libération de DA consiste en l'infusion de tyramine par la sonde de microdialyse, qui induit un efflux massif de DA du compartiment vésiculaire vers le compartiment extracellulaire (Fairbrother et al. 1990). Cette méthode permet d'évaluer les stocks de DA dans une structure donnée chez des animaux témoins, MDMA ou MPH (Tableau 10).

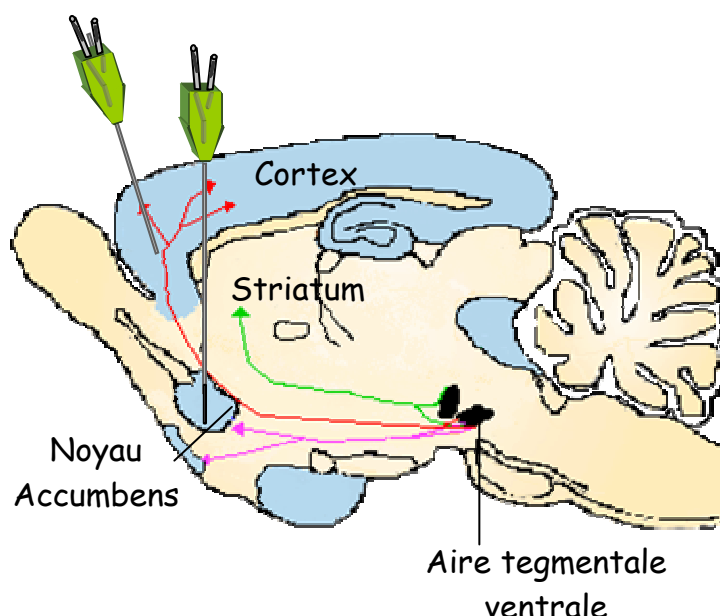
**Tableau 10 : Caractéristiques des sondes et paramètres de microdialyse.**

	Cortex préfrontal	Noyau accumbens
Hémisphère	Droit	Gauche
Coordonnées AP	3,2 mm	1,7 mm
ML	-0,6 mm	1,2 mm
DV	-4,5 mm	-6,4 mm
Inclinaison	10°	-
Longueur des membranes des sondes	3 mm	1 mm
Concentration Tyramine	1,2 mM	0,6 mM
Débit de perfusions		1,2 µl/min
Durée du recueil		20 min

### **1. Chirurgie**

Les rats sont mis dans une boîte hermétique sous flux d'isoflurane 4% (500 ml/min). Une fois anesthésiés, ils sont placés en décubitus ventral et calés auriculairement sur la table de stéréotaxie (Stoelting, USA). La température corporelle de l'animal est maintenue à  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  pendant toute la durée de l'opération grâce à un banc thermostaté (CMA 150, CMA/Microdialysis, Stockholm, Suède). Le rat est maintenu anesthésié par un masque où circule l'isoflurane à 2% (500 ml/min). La surface crânienne est mise à jour, soigneusement ruginée et asséchée et le point Bregma, situé à l'intersection des sutures crâniennes coronales et sagittales, est localisé.

Les coordonnées de localisation des sondes de microdialyse sont déterminées à partir de l'Atlas de Paxinos et Watson (1986). Elles sont pour le cortex préfrontal : **AP = 3,2 mm, ML = 0,6 mm avec un angle d'inclinaison de 10°, DL = 4,5 mm** et le noyau accumbens, **AP = 1,6 mm, ML = 0,8 mm, DL = 7,4 mm**. La microdialyse sur rat vigile est effectuée en double implantation en position controlatérale (Figure 18).



**Figure 18 : Implantation des sondes de microdialyse au niveau du cortex préfrontal et du noyau accumbens.**

## 2. Implantation des guides canules

Les sondes de microdialyse sont implantées dans le cerveau à travers des guides "canules spécifiques" (MAB 2 14 G pour le cortex préfrontal et MAB 2 20 G pour le noyau accumbens, CMA/Microdialysis, Stockholm, Suède). Ces guides sont placés à 3 mm au dessus de l'endroit exact de l'implantation ultérieur de la sonde pour le cortex préfrontal, et à 1 mm pour l'implantation au niveau du noyau accumbens. Leur lumière est obturée par un mandrin. Les guides, fixés à l'appareil stéréotaxique, sont introduits puis fixés au crâne par du ciment dentaire (Henri Schein) sur 2 vis d'ancrage implantées dans deux plaques osseuses différentes (vis Zehr®, 1.80 x 2.20 mm). Après solidification du ciment, la peau du crâne incisée est recousue autour des guides. Une injection par voie intra péritonéale de 2 ml de sérum glucosé est effectuée à la fin de l'opération afin de permettre une restauration volémique et énergétique.

### 3. Implantation des sondes

Avant le réveil de l'animal, les mandrins sont ôtés des guides canules et remplacés par les sondes de microdialyse (MAB6-14-2 pour le cortex préfrontal et MAB6-20-1 pour le noyau accumbens, 0,6mm de diamètre externe, 3 et 1mm de longueur de membrane, Cut-Off 15000 Daltons, CMA/Microdialysis, Stockholm, Suède). Un collier est placé autour du cou de l'animal et celui-ci est placé dans une cage cylindrique en plexiglas (diamètre 40 cm, hauteur 32 cm). Les sondes sont connectées au pousse-seringue (Harvard Apparatus 22, USA), le fluide de perfusion (PBS) qui consiste en du milieu de Dulbecco modifié par ajout de  $\text{CaCl}_2$  2,2 mM et  $\text{MgCl}_2$  1,1 mM (ICN, USA) est perfusé à un débit de 0,8  $\mu\text{L}/\text{min}$ . A son réveil, l'animal est libre de ses mouvements grâce à un système de potence CMA. Durant le temps nécessaire au recouvrement post-opératoire, au moins 20 h (Liu et Kato, 1996), l'animal a accès ad libitum à l'eau et à la nourriture.

### 4. Recueil des dialysats et stimulation à la Tyramine

Après une période de récupération post-opératoire de 22 heures dans notre expérience, les sondes de microdialyse sont perfusées à un débit de 1,2  $\mu\text{L}/\text{min}$  avec du tampon Dulbecco. Les échantillons sont récupérés toutes les 20 min pendant 5 h, dans des tubes contenant 5  $\mu\text{L}$  d'acide perchlorique à 0,1M. Les premiers recueils vont contenir des concentrations de DA correspondant aux concentrations extracellulaires de cette molécule en condition basale (Figure 19). Après deux heures, la stimulation à la Tyramine (Sigma, St Louis, USA) est effectuée par perfusion in situ dans les sondes de microdialyse pendant 40 minutes, à des concentrations de 1,2 mM dans le cortex préfrontal et 600  $\mu\text{M}$  dans le noyau accumbens (Kodas et al. 2002). La concentration de monoamines libérées en condition basale correspond à la moyenne des concentrations obtenues dans les premiers dialysats dans lesquelles les concentrations ne varient pas de plus de 15%. Les concentrations obtenues dans les dialysats suivants sont exprimées en pourcentage de cette concentration basale. A la fin de l'expérience, le rat est anesthésié par injection intrapéritonéale de pentobarbital puis sacrifié par décapitation. Les sondes sont retirées et nettoyées. Le cerveau est prélevé et congelé à  $-80^\circ\text{C}$ . L'emplacement correct des sondes dans le noyau accumbens et le cortex préfrontal est vérifié histologiquement sur des coupes sagittales de 16  $\mu\text{m}$  réalisées au cryotome (Reichert-Jung Cryocut CM3000 Leica, France) à  $-20^\circ\text{C}$ .

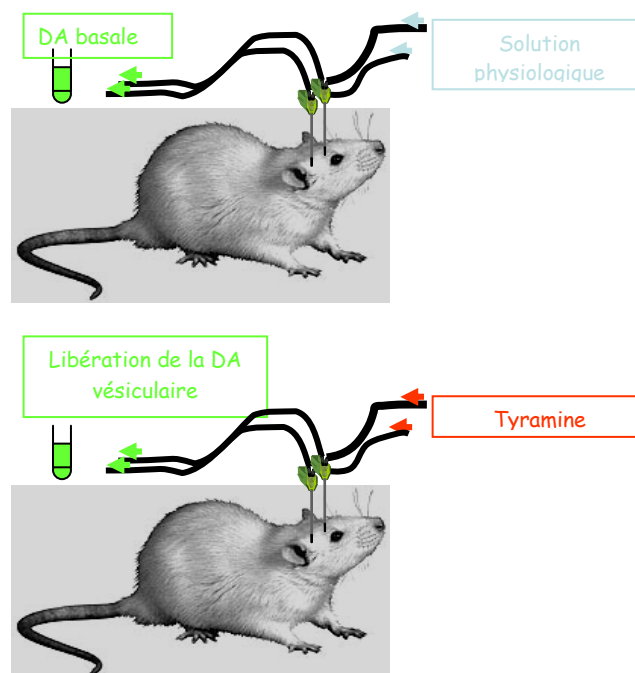


Figure 19 : Dopamine (DA) recueillie par microdialyse en fonction de la solution infusée dans les sondes.

## ***B. Quantification par HPLC des monoamines***

Les taux de DA sont dosés à partir des échantillons de microdialyse par HPLC couplée à un détecteur électrochimique Concorde Apparatus (Waters, StQuentin-Yvelines, France). Chaque échantillon est injecté dans une boucle d'injection (Rheodyne 7725i injector valve) de 20  $\mu$ l. La phase mobile permettant la séparation optimale des monoamines après microdialyse est composée de 85% d'une phase aqueuse (acide citrique 20 mM, phosphate de sodium monobasique 10 mM, acide octanesulfonique 3,25 mM, acide heptanesulfonique 3 mM, EDTA 0,1 mM, KCl 2 mM, acide orthophosphorique 85° 6 mL/L, diéthylamine 2 mL/L) et de 15% d'une phase organique composée de 10% d'acétonitrile et 5% de méthanol pH =  $3,0 \pm 0,1$  (dérivé de Jouve et al., 1983). La phase est filtrée sur filtre Millipore HM 0,45  $\mu$ m. Elle est ensuite entraînée par une pompe dans le système Gold 118 (Beckman, Fullerton, CA) au débit de 0,3 mL /min. La séparation des composés est réalisée à l'aide d'une colonne de chromatographie en phase inverse analytique C18, 3  $\mu$ m 3,2 x 100 mm (silice greffée) (LC-22C, BAS, West Lafayette, USA) maintenue à 37°C. La détection et la quantification des différentes monoamines sont assurées par un détecteur électrochimique de type ampérométrique. Les différentes monoamines séparées par HPLC passent successivement

dans la cellule du détecteur au niveau de laquelle est imposé un potentiel constant de 0,61 V, qui induit leur oxydation. Cette réaction génère des électrons dans un courant dont l'intensité est liée à la concentration de chacune des molécules électroactives détectées (ici, les noyaux catéchols). Les concentrations en DA ont été calculées en comparant les pics obtenus pour chaque échantillon à ceux obtenus pour des étalons externes.

### ***C. Quantification de marqueurs neuronaux dopaminergiques par autoradiographie.***

Après les manipulations de microdialyse, les rats sont sacrifiés et les cerveaux sont extraits et congelés à -80°C. Des coupes coronales de 16 µm d'épaisseur au niveau du cortex préfrontal, du noyau accumbens / striatum, et de la substance noire / aire tegmentale ventrale dont les coordonnées antéro-postérieures respectives sont de 4,8 mm, 1,5 mm et -5,2 mm ± 0,5 mm par rapport au bregma (Paxinos et Watson 1986), sont réalisées par cryotome (Reichert-Jung Cryocut CM3000 Leica, France) et montées sur lames Superfrost. Les coupes sont conservées à -80°C jusqu'aux études de radiomarquage.

Le jour de la radiolisation, les lames (3 coupes/lame) sont décongelées et séchées à température ambiante. Six coupes consécutives sont alors mises en incubation avec les ligands spécifiques (100 µl/coupe) à température ambiante. Le marquage non spécifique est quantifié sur trois coupes adjacentes qui sont incubées avec la même solution de ligand radiomarké dans laquelle est ajouté un autre ligand froid de concentration supérieure. Les protocoles de marquage autoradiographique sont indiqués dans le Tableau 11. Les coupes sont ensuite lavées deux fois dans un bain de tampon à 4°C, puis rincées dans de l'eau distillée toujours à 4°C. Après séchage, les coupes sont recouvertes de films sensibles aux rayonnements (Biomax MR, Kodak, France) en présence de gammes tritiées ou iodées calibrées (<sup>125</sup>I-microscales ou <sup>3</sup>H-microscales, Amersham Biosciences AB). Cette étape se fait dans des cassettes à rayons X, dans un environnement complètement opaque et à 4°C. A la fin de la période d'exposition nécessaire, les films sont révélés, fixés (révélateur et fixateur, Kodak), rincés et séchés en chambre noire.

Les films sont scannés et analysés à l'aide d'un analyseur d'images (β-Vision+, Biospace, France). Les régions d'intérêt sont dessinées manuellement, et l'intensité du niveau de gris de chaque région est convertie en concentration de radioactivité par poids de tissu

(Bq/mg) grâce aux gammes étalons. L'intensité de marquage est ensuite exprimée en fmol/mg de tissu, en rapportant la quantité de radioactivité à l'activité spécifique du radioligand utilisé.

**Tableau 11 : Caractéristiques expérimentales des différents protocoles d'autoradiographie.**

	DAT	VMAT2	RD2	RD1
Radiotracteur	<sup>125</sup> I-PE2I	<sup>3</sup> H-DTBZ*	<sup>3</sup> H-YM-09151-2*	<sup>3</sup> H-SCH23390*
Concentration	100 pM	7,5 nM	0,3 nM	2 nM
Activité spécifique	74 TBq/mmol	740 GBq/mmol	3,06 TBq/mmol	3,145 TBq/mmol
Fixation non spécifique	Cocaine 100 µM	Résérpine 2µM	Butaclamol 10µM	Butaclamol 10µM
Tampon	Tampon phosphate de sodium pH=7,4 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 10,14 mM, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 1,76 mM, NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM	Tampon phosphate de sodium pH= 7,7 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 63,34 mM, KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> 43,39 mM	Tampon Tris pH=7,4 Tris 0,2 M, HCl 0,2 M, NaCl 100 mM, MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O 1 mM, Pargyline 10 mM	Tampon Tris pH=7,4 Tris 0,2 M, HCl 0,2 M, NaCl 120 mM, KCl 5mM, CaCl <sub>2</sub> 2 mM, MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O 1 mM
Durée d'incubation	90 min	60 min	120 min	120 min
Durée d'exposition	1 à 2 jours	3 mois	3 mois	2 mois

\* produits PerkinElmer (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Boston, USA)



## ***D. Marquage immunohistochimique de la tyrosine hydroxylase et du BrdU***

### **1. Administration du BrdU**

Le 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) est un marqueur de prolifération cellulaire. C'est un analogue d'une base nucléotidique, la thymidine, qui peut être incorporé dans l'ADN au moment de la réplication. Une fois incorporée, cette molécule peut être détectée par des méthodes immunohistochimiques classiques.

A P2, P7, P14 ou P21, les rats reçoivent 4 injections de BrdU (Sigma-Aldrich) de 75 mg/kg par voie intrapéritonéale, réalisées à intervalle de 2 heures. Les groupes adultes ont reçu 5 injections de BrdU, à raison de 150 mg/kg toutes les deux heures. Le BrdU est dissous dans du Chlorure de Sodium à 0,9%. (10 ml/kg et 5 ml/kg, respectivement pour les groupes P2-P7 et P14-P21-adulte). Pour faciliter la dissolution du BrdU, la solution est chauffée à 50°C. Le pH est ensuite ajusté à 7. Les animaux sont sacrifiés le lendemain des injections.

### **2. Préparation des tissus**

L'animal est mis dans un profond état d'inconscience par inhalation d'éther pour les individus âgés de 3 et 8 jours, ou par injection intrapéritonéale d'une forte dose de Pentobarbital (50 mg/kg ; 1 ml/kg) chez les rats à P15, P22 et adulte. La cage thoracique est découpée afin de pouvoir atteindre le cœur. L'oreillette droite est perforée et 200 ml de sérum physiologique frais sont perfusés par le ventricule gauche à un débit de 15 ml/min, permettant ainsi l'exsanguination de l'animal chez l'adulte. A des stades plus précoces du développement, les rats sont perfusés avec des volumes moins importants et surtout à un débit plus faible. Les tissus sont ensuite fixés par perfusion de 200 ml de PFA 4% frais. Le cerveau est alors extrait du crâne et mis pendant 24h dans un bain de PFA 4% à 4°C, puis et jusqu'à sa découpe, mis dans un bain de saccharose 30% (cryoprotecteur).

### 3. Réalisation des coupes

Avant la coupe, le cerveau est mis à -20°C et est monté sur les platines de découpe dans du milieu d'enrobage (Tissutek, Leica microsystemes, France). Les coupes sont réalisées à l'aide d'un cryotome (Reichert-Jung Cryocut CM3000 Leica, France). Les régions d'intérêts et l'épaisseur des coupes frontales pour chaque protocole de marquage sont récapitulées dans le tableau ci-contre (Tableau 12).

**Tableau 12 : Régions d'intérêts et épaisseur des coupes pour chaque marquage immunohistochimique.**  
ATV : Aire Tegmentale Ventrale ; DG : Gyrus dentelé ; NAc : Noyau accumbens ; SNc : Substance noire compacta

Marquage	BrdU		TH	
Stade de développement	P2, P7, P14 et P21	Adulte	P21	Adulte
Epaisseur des coupes	40 µm	30 µm	40 µm	30µm
Localisation	DG	VL – DG	NAc / Striatum ATV / SNc	

Par structure d'intérêt, une coupe sur quatre, sur cinq ou sur six, respectivement pour les groupes de rats de 2 jours, 7 jours et 14-21-70 jours, sont utilisées ; ce qui permet d'obtenir 10 à 20 coupes par structure pour chaque marquage. Les coupes, en vue d'un marquage en conditions flottantes, sont conservées dans une solution de PBS 0,1M / 0,1% azide de sodium.

### 4. Protocole de marquage

Les incubations des coupes dans les différentes solutions sont réalisées sous agitation. La première étape du traitement des coupes consiste en l'inhibition des peroxydases endogènes par l'immersion des coupes dans une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% / 10% Methanol / PBS 0,1M, pendant 15 min. Les coupes sont rincées par deux immersions successives dans des bains de PBS 0,1M. Avant l'incubation avec l'anticorps primaire, une seconde étape de traitement est nécessaire pour le marquage du BrdU. Le marquage étant nucléaire, l'ADN doit

être dénaturé afin de rendre accessible le BrdU intercalé dans les brins. Les coupes sont immergées pendant 30 min dans du HCl 2N. Pour rééquilibrer le pH, elles sont ensuite incubées 10 min dans une solution d'acide borique 1N à pH 8,5, puis rincées à l'aide de deux bains successifs de 15 min, l'un de PBS 0,1M, l'autre de PBS 0,1M / 0,2% Triton X-100. Pour les deux types de marquage, le Triton X-100 est utilisé pour sa qualité de détergeant permettant la perméabilisation des membranes. Les coupes sont ensuite mises en présence de l'anticorps primaire monoclonal de souris anti-BrdU anti-rat (Sigma-Aldrich) dilué au 1/1000<sup>ème</sup> ou de l'anticorps monoclonal de souris anti-tyrosine hydroxylase anti-rat (Sigma-Aldrich) dilué au 1/1500<sup>ème</sup>, dans du PBS 0,1M / 0,2% Triton X-100 / 2% sérum de chèvre, pendant une nuit. Après deux rinçages successifs au PBS 0,1M / 0,2% Triton X-100, les coupes sont mises en présence de l'anticorps secondaire biotinylé anti-IgG de souris (Kit ABC, Dakocytomation, France), dilué au 1/200<sup>ème</sup> dans du PBS 0,1M / 0,2% Triton X-100, pendant 2 h. Les coupes sont alors rincées deux fois 15 min dans des bains de PBS 0,1M. Le signal du complexe Ag/AcI<sup>aire</sup> /Ac II<sup>aire</sup> est amplifié par ajout d'Avidine-Peroxydase (Kit ABC, Dakocytomation, France). La révélation du marquage se fait par incubation des coupes pendant 4 ou 20 min respectivement pour le marquage TH ou BrdU, dans un bain de diaminobenzidine (DAB, Sigma Fast DAB Tablet Set) dissous dans de l'eau distillée. La réaction de la DAB avec les peroxydases du complexe forme une coloration brune. Un rinçage au PBS 0,1M met fin à la réaction. Les coupes sont alors montées sur lames gélatinées, séchées sous hôte et conservées sous lamelle par un milieu de montage aqueux (Permanent aqueous medium, Dakocytomation, France).

## 5. Protocole de quantification

La quantification du marquage immunohistochimique s'est faite sous microscope optique (Leica DMLB, Leica, Denmark) à un grossissement de X2.5 pour le marquage TH au niveau du NAc/striatum et de X10 pour les marquages de TH au niveau des corps cellulaires et de BrdU. L'image est transmise à un système informatique par une caméra vidéo 3CCD (Sony Corporation, Tokyo, Japon) et analysée à l'aide du logiciel Histolab (Microvision Instrument, Evry, France). Cette étape de quantification est réalisée en aveugle.

### **a. Tyrosine hydroxylase**

Les corps cellulaires marqués à la TH dans l'ATV sont dénombrés exclusivement sur les sections situées entre -5,2 et -5,3 mm par rapport au Bregma (Paxinos et Watson 1986), c'est-à-dire au niveau où la limite entre l'ATV et la SNc est anatomiquement identifiable par la présence du noyau terminal median du tractus optique accessoire (MT) qui n'est pas immunoréactif. Du fait que la SNc est une structure plus homogène que l'ATV, les corps cellulaires immunoréactifs à la TH sont dénombrés sur toutes les coupes de la structure entière. Le comptage des corps cellulaires marqués dans ces deux aires est réalisé de façon semi-automatique avec des paramètres de détection établis (seuil de contraste et surface minimum de  $0,15 \cdot 10^{-3} \text{ mm}^2$ ). Les résultats sont exprimés en nombre de corps cellulaires marqués par  $\text{mm}^2$  moyen  $\pm$  S.E.M.

Le marquage de la TH des fibres catécholaminergiques est évalué sur toutes les coupes contenant le striatum et le NAc. Il est quantifié par soustraction de la densité optique (DO) au niveau du corps calleux (zone constante non immunoréactive pour laquelle la DO correspond au bruit de fond) à celle des structures d'intérêt. Ainsi, l'intensité spécifique du marquage de la TH est exprimée en moyenne de la densité optique obtenue (unité arbitraire)  $\pm$  S.E.M.

### **b. BrdU**

Les cellules immunopositives au BrdU sont quantifiées sur les coupes de cerveau de rats en développement de façon automatisée selon des paramètres de détection imposés (seuil de contraste avec le bruit de fond et surface minimum de  $4 \cdot 10^{-6} \text{ mm}^2$ ). Sur les coupes de cerveau adulte, le nombre de cellules au noyau immunoréactif ainsi que le nombre de clusters (aggrégat de plus de 3 cellules marquées) ont été quantifiés manuellement du fait du faible taux de marquage (entre 10 et 20 cellules marquées par gyrus dentelé).

## ***E. Quantification des ARNm de BDNF***

### **1. Recueil des structures**

Les animaux adultes sont sacrifiés par décapitation. Le cerveau est extrait de la boîte crânienne et les structures d'intérêt (cortex préfrontal, noyau accumbens, striatum, hippocampe et mésencéphale) sont disséquées et ajoutées à 1 ml de RNAlater® (Ambion). Elles sont conservées ainsi à -80°C jusqu'à utilisation.

### **2. Extraction des ARN totaux**

Les structures entières sont transférées dans 1 ml de TRIzol® (Invitrogen, Cergy Pontoise, France) et dissociées mécaniquement par deux séries de pipetage, séparées par 15 min de congélation à -80°C. Cette première étape permet également de séparer les ARN des protéines. Ce réactif contient du phénol et de l'isothiocyanate de guanidine capables en se complexant aux ARN de rompre les interactions entre ARN et protéine. A cette solution est ajouté 200 µl de chloroforme avant agitation vigoureuse pendant 15 sec. Le chloroforme est un excellent solvant de matière organique et permet ici d'éliminer de la phase aqueuse contenant les ARN toutes traces des précédents solvants. Les tubes sont laissés 3 min à température ambiante, puis centrifugés à 6500 g pendant 15 min à 4°C. La phase aqueuse ainsi séparée (phase supérieure) est transférée dans un nouveau tube, dans lequel est ajouté 500 µl d'isopropanol pur que l'on mélange doucement par retournement 5 fois pour précipiter les ARN. Les tubes sont laissés à température ambiante pendant 10 min, puis de nouveau centrifugés à 6500 g pendant 10 min à 4°C. Les ARN ainsi précipités, forment un culot. Le surnageant est éliminé par retournement. Une dernière étape de purification des ARN est réalisée par ajout de 1 ml d'éthanol 75% au culot. Les tubes sont agités puis centrifugés pendant 5 min à 4°C et 4000 g. Le maximum de surnageant est ensuite éliminé et le culot est séché à l'air libre (tube ouvert) à température ambiante pendant 5 min pour éliminer les traces d'éthanol. Il est ensuite dissous dans 25 µl d'eau ultra pure par aspiration-rejet et conservé à -20°C jusqu'à la réalisation de la quantification des ARN extraits.

Les ARN sont dosés par spectrophotométrie capillaire. L'absorbance de l'échantillon est mesurée à 260 nm et 280 nm, qui sont respectivement la longueur d'onde maximale des

acides nucléiques et des protéines. Le rapport des absorbances 260/280 nm indique le degré de pureté de l'extraction, qui doit être compris entre 1,8 et 2. Les concentrations sont exprimées en ng/μl, selon la relation : une unité d'Absorbance à 260 nm = 40 ng/ml.

Pour contrôler l'intégrité des ARN extraits, une migration par électrophorèse en gel d'agarose 1%, contenant 0,05 μg/ml de Bromure d'éthidium (BET, Invitrogen) est réalisée sur quelques échantillons représentatifs des différents groupes et structures. La présence de trois bandes correspondant aux ARNr 28S, 18S et 5S confirme l'intégrité des échantillons.

### 3. RT-PCR en temps réel

Les ARN sont traités à la DNase I afin d'éliminer toute contamination éventuelle par de l'ADN. Dans cette étape, 1 μg d'ARN de chaque échantillon est déposé en triple dans les puits, et dilué dans un volume final de 10 μl d'eau ultra-pure. Les ARN sont traités par ajout de 1 μl de DNase I associé à 1 μl de tampon DNase 10X (Invitrogen) et incubés ainsi à température ambiante pendant 15 min. La DNase I est ensuite inactivée en présence d'EDTA (1 μl/μg d'ARN) à 65°C, pendant 10 min.

Les ARN sont ensuite rétro-transcrits en ADN complémentaire (ADNc) grâce à une enzyme, la transcriptase inverse qui synthétise le brin complémentaire d'ADN à partir d'amorces hybridées sur l'ARN. La réaction de transcription inverse (RT) est effectuée dans un volume réactionnel de 25 μl contenant 250 ng d'ARN, 100 ng d'amorces hexamères (random primers, Invitrogen), 1 mM de dNTP, 10 mM de dithiothréitol (DTT) et 10 U de transcriptase inverse (enzyme Superscript II, Invitrogen), et s'effectue à 42°C pendant 45 min.

**Tableau 13 : Séquences nucléotidiques des amorces utilisées pour l'amplification des gènes GAPDH et BDNF.**

Amorce	Séquence
GAPDH Forward	5' CTG CAC CAC CAA CTG CTT AG 3'
GAPDH Reverse	5' GTC TTC TGG GTG GCA GTG AT 3'
BDNF Forward	5' TAA ATG AAG TTT ATA CAG TAC AGT GGT TCT ACA 3'
BDNF Reverse	5' AGT TGT GCG CAA ATG ACT GTT T 3'

Les produits de la RT sont analysés par PCR en temps réel qui est une technologie basée sur la détection d'un reporter fluorescent (Sybergreen) dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'ADN double brin généré pendant la réaction de PCR. Le mélange réactionnel, avec un volume final de 25 µl, est composé de 5 µl de produit de RT, 0,4 µmol/L d'amorces spécifiques de l'ADNc de la GAPDH (Glycéraldéhyde 3-phosphate deshydrogénase) ou du BDNF (Tableau 13) et 12,5 µl de SYBR green QPCR Supermix UDG (Invitrogen), composé d'ADN polymérase, de dNTP et de SYBR green. L'amplification est réalisée dans un thermocycleur iCycler (Biorad) suivant le protocole décrit dans le Tableau 14.

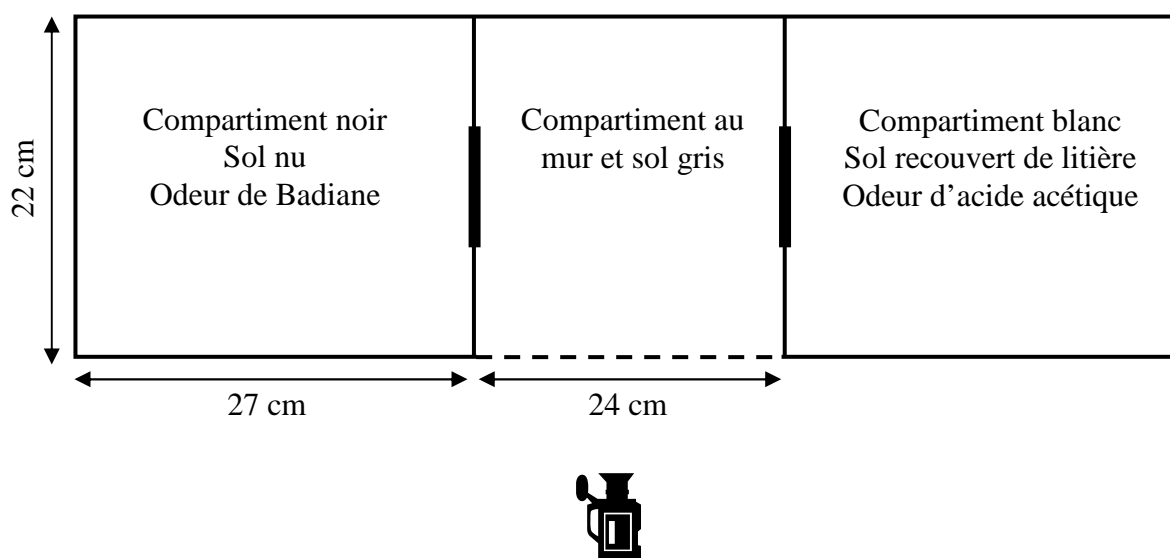
**Tableau 14 : Protocole de PCR en temps réel.**

Nombre de cycles	Etapes	Température (°C)	Durée	
X 1	1	50	2 min	
X 1	1	95	2 min	
X 45	1	95	15 sec	Dénaturation ADNc
	2	59	30 sec	Hybridation des amorces
	3	72	30 sec	Elongation
X 55	1	72 + 0,5	10 sec	Vérification de la spécificité de l'amplification (courbe de fusion)
X 1	1	4	10 min	

Une valeur seuil de fluorescence a été établie supérieure au bruit de fond. Lorsque l'amplification a lieu, le niveau de fluorescence émise par le SYBR green augmente rapidement pour former une courbe exponentielle. L'intersection entre la valeur seuil et la courbe exponentielle de fluorescence définit le cycle seuil (Ct, Cycle threshold) qui correspond au nombre de cycles nécessaires pour que la quantité de fluorescence dépasse la valeur du bruit de fond. La qualité de l'amplification est contrôlée par le Ct du gène de standardisation GAPDH dont l'expression est considérée comme constante dans les différents tissus. Le niveau d'expression du gène BDNF pour chaque structure est calculé de façon relative à celui du gène de standardisation réalisé sur le même support biologique, et est exprimé en  $\Delta Ct$  ( $Ct_{BDNF} - Ct_{GAPDH}$ ). Pour comparer les résultats entre rats témoins et MDMA, la méthode du  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  a été utilisée avec pour exemple :  $\Delta\Delta Ct$  du rat X =  $\Delta Ct$  du rat X – moyenne des  $\Delta Ct$  des rats témoins.

## ***F. Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne***

La cocaïne est un psychostimulant qui produit des effets appétitifs ou récompensants, en entraînant une augmentation de la transmission dopaminergique des voies mésocorticolimbiques. La réponse comportementale induite par la cocaïne et associée au système de récompense peut être évaluée dans une procédure de conditionnement de lieu. La préférence de lieu conditionnée à la cocaïne est évaluée chez les rats adultes exposés en période prénatale au MDMA ou au liquide physiologique, à l'aide d'un dispositif composé de trois compartiments représentés dans le schéma ci contre (Figure 20). Deux portes simples permettent le passage d'un compartiment à un autre. Les caractéristiques sensorielles (couleur, texture et odeur) des deux compartiments de conditionnement (droite et gauche) ont été choisies lors d'essais préliminaires, et assurent que l'animal ne témoigne pas de préférence spontanée pour l'un ou l'autre. Les déplacements sont enregistrés par une camera vidéo placée latéralement devant le compartiment central grillagé.



**Figure 20 : Schéma du dispositif dans lequel est effectué le conditionnement de la préférence de lieu à la cocaïne.**

La phase de conditionnement dure 8 jours répartis en deux séries espacées de 2 jours. Pendant cette phase, les portes sont fermées. Deux animaux par portée et par sexe sont nécessaires à cette étude. Le premier est inclus dans le groupe cocaïne et le second dans le groupe contrôle. Chaque animal du groupe cocaïne se voit attribué un compartiment fixe



associé à la cocaïne et par défaut l'autre au liquide physiologique. Le compartiment de conditionnement est attribué de façon semi-randomisée entre les différents animaux afin qu'il y ait autant de rats conditionnés à la cocaïne dans chaque compartiment. Les animaux sont injectés chaque jour alternativement à la cocaïne (Sigma Chemical Co, St. Louis, MO, USA) à 15 mg/kg et au liquide physiologique par voie intrapéritonéale. Cinq minutes après injection, l'animal est placé dans le compartiment de conditionnement défini pendant 30 min. Les animaux du groupe contrôle reçoivent des injections de liquide physiologique de façon journalière et alternée dans l'un et l'autre des compartiments.

La préférence de lieu conditionnée à la cocaïne est évaluée le jour suivant la fin de la phase de conditionnement. Les animaux sont placés dans le compartiment central et ont libre accès à tout l'appareil pendant 10 min. Le temps passé dans chaque compartiment est relevé et la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne est exprimée en pourcentage du temps passé dans le compartiment associé à la cocaïne. Ces résultats nous permettront d'évaluer la valeur récompensante de la cocaïne et indirectement nous apporter un indice de l'intégrité fonctionnelle des systèmes neuronaux responsable du comportement de récompense chez nos individus exposés au MDMA.

## ***G. Traitement statistique***

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel StatView v5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). L'usage de tests paramétriques et non paramétriques a été requis du fait des caractéristiques de normalité et d'homogénéité des échantillons.

Le gain de poids entre G13 et G20 des rates gestantes ainsi que la taille et le ratio mâle/femelle de la portée à la naissance, sont des paramètres qui ont été comparés entre les groupes MDMA/MPH et témoin (saline) à l'aide d'un test t de Student.

La réponse thermique des rates gestantes relevée quotidiennement et moyennée pendant la période du traitement est comparée à l'aide d'un test t de Student entre les groupes MDMA et témoin. En plus, une analyse de variance ANOVA à deux facteurs [exposition X jour] a été utilisée pour évaluer de potentielles différences dans la réponse thermiques en fonctions des jours.

L'évolution du poids des petits est comparée statistiquement par une analyse de variance ANOVA à trois facteurs [exposition prénatale (MDMA/MPH vs. Saline), sexe (Mâle vs. Femelle), et stade de développement (P1, P7, P14 et P21)], avec mesures répétées sur ce dernier facteur. Pour chaque stade, une analyse de variance ANOVA à deux facteurs est consécutivement réalisée, complétée si nécessaire par le test post hoc de Fischer.

Dans le modèle d'exposition au MDMA, les résultats des marquages autoradiographiques et immunohistochimiques, ainsi que ceux de l'étude des ARNm du BDNF, sont comparés par une analyse de variance ANOVA à deux facteurs [exposition prénatale (MDMA vs. Saline), et sexe (Mâle vs. Femelle)], complétée du test post-hoc de Fisher.

Les tests non paramétriques sont utilisés pour l'analyse des résultats du test comportemental et de la quantification de DA et DOPAC des microdialysats, en raison de la très grande hétérogénéité des variances des groupes (Test de Bartlett). L'analyse de variance par le test de Kruskal-Wallis a alors été réalisé, suivi si nécessaire du test de Mann-Whitney.

Dans le modèle d'exposition au MPH, les résultats des marquages autoradiographiques sont comparés par le test de Mann-Whitney.

Dans tous les cas, la valeur  $p < 0,05$  a été fixé comme limite supérieure de significativité statistique. Par convention, la progéniture exposée de E13 à E20 aux psychostimulants correspond au groupe « MDMA » ou « MPH » et la progéniture témoin exposée au liquide physiologique est le groupe « Saline ».

---

# RESULTATS

---



# I. Effets d'une exposition prénatale au MDMA sur les systèmes dopaminergiques du rat adulte

## A. Paramètres physiologiques

### 1. Poids et température corporelle des rates gestantes

L'exposition des femelles gestantes au MDMA entraîne une baisse statistiquement significative de la prise de poids au cours de la période d'exposition (G13-G20) [ $t(13)=2,19$  ;  $p<0,05$ ] et [ $t(10)=12,56$  ;  $p<0,01$ ], pour la première et la deuxième série expérimentale respectivement (Tableau 15).

**Tableau 15 : Caractéristiques physiologiques des rates gestantes pendant la période d'exposition et des portées à la naissance.**

	Exposition prénatale	
	Saline	MDMA
Première série	n=8	n=7
Mère gestante		
Prise de poids (g) G13-20	77,50 ± 9,43	56,14 ± 4,73*
Portée à la naissance		
Nombre total	10,57 ± 1,70	12,28 ± 0,64
Ratio mâle/femelle	0,95 ± 0,25	1,09 ± 0,19
Nombre de mâles	4,38 ± 1,02	6,14 ± 0,77
Nombre de femelles	5,25 ± 1,19	6,14 ± 0,55
Deuxième série	n=6	n=6
Mère gestante		
Prise de poids (g) G13-20	87,33 ± 5,49	61,50 ± 7,06**
Portée à la naissance		
Nombre total	11,83 ± 0,91	10,50 ± 1,23
Ratio mâle/femelle	0,90 ± 0,15	1,06 ± 0,35
Nombre de mâles	5,33 ± 0,67	5,17 ± 1,37
Nombre de femelles	6,33 ± 0,61	5,33 ± 0,42

La prise de poids des mères gestantes est calculée pendant la période d'exposition au MDMA. Les valeurs représentent la moyenne ± S.E.M. \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  significativement différent du groupe saline (Student t test).

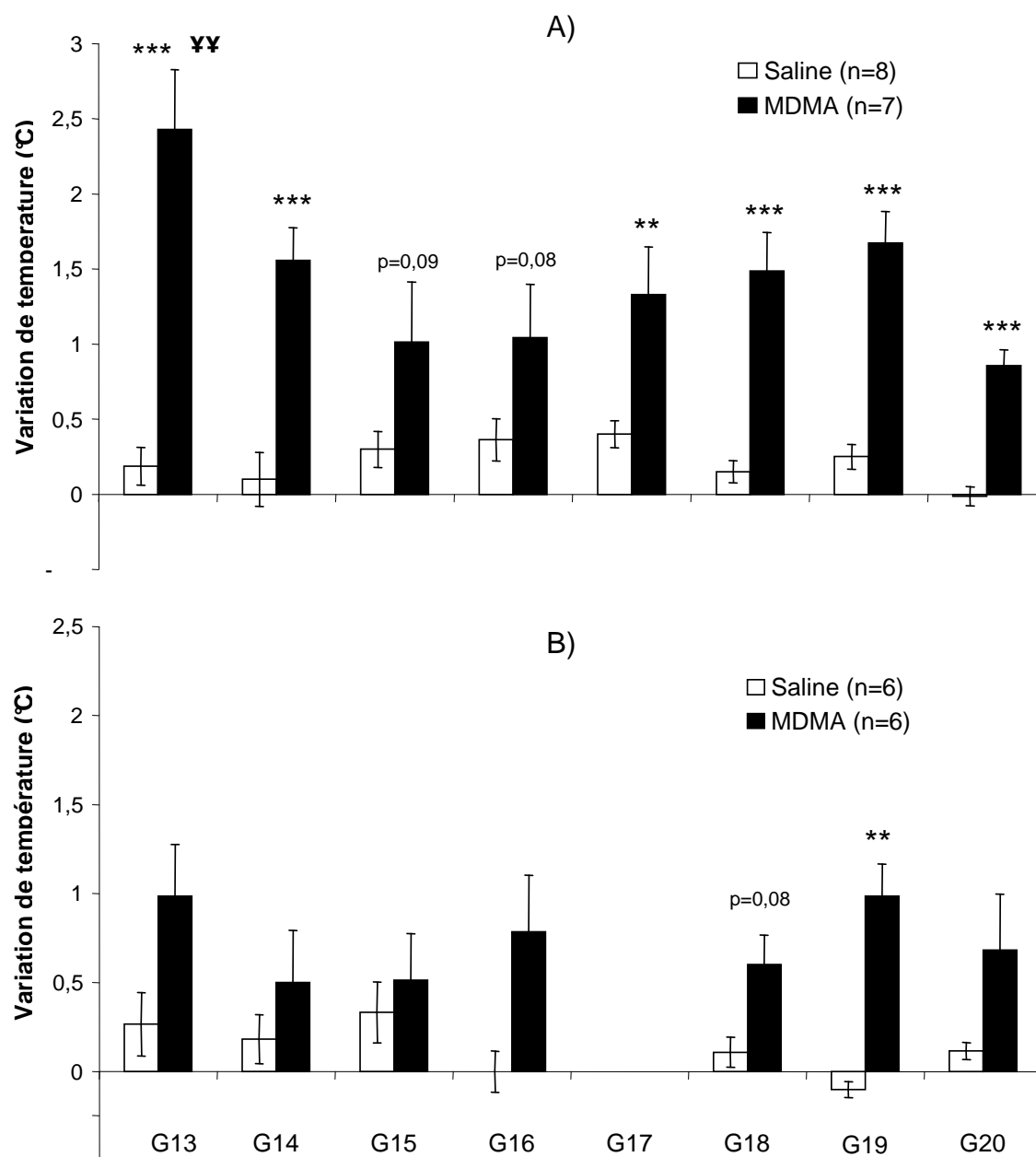
L'administration du MDMA entraîne une heure après injection une modification de la température corporelle. Avant injection, la température est de  $37,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$  pour chacun des groupes. Cependant, alors qu'elle reste constante chez les femelles Saline, la température est

est globalement augmentée sur les 8 jours d'exposition de  $1,4 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  dans la première série expérimentale [ $t(13)=34,09$  ;  $p<0,0001$ ] chez les femelles MDMA. Quand on s'intéresse plus précisément à l'effet de l'administration de MDMA sur la réponse thermique corporelle en fonction des jours de traitement, on observe que l'augmentation de la température est variable selon le jour de l'exposition [ $F(7,42)=4,74$  ;  $p<0,0005$ ]. En effet, alors que cette augmentation de température est présente dans la quasi-totalité des jours de traitement, elle est retrouvée statistiquement plus importante lors du premier jour (Figure 21A).

Dans la deuxième série expérimentale, il est observé une augmentation moyenne de la température corporelle de  $0,8 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  [ $t(10)=4,54$  ;  $p<0,05$ ] chez les femelles exposées au MDMA. Bien que cette augmentation ne soit statistiquement significative qu'à G19, le jour d'exposition n'a pas d'incidence sur la réponse thermique [pas d'interaction entre l'effet de l'exposition et le jour :  $F(6,30)=0,92$  ;  $p=0,49$ ] (Figure 21B).

## **2. Caractéristiques de la portée**

L'exposition prénatale au MDMA ne semble pas avoir d'effet tératogène sur la progéniture. En effet, dans les deux séries expérimentales, le nombre de petits par portée à terme ne diffère pas entre le groupe saline et MDMA, avec un ratio mâle/femelle qui reste équilibré dans les deux groupes (Tableau 15).



**Figure 21 : Effet de l'administration du MDMA ou du liquide physiologique sur la température corporelle**, au cours de la première (A) et de la deuxième (B) série d'exposition. Les valeurs sont exprimées en moyenne  $\pm$  S.E.M. de variation de température, calculée par soustraction de la température rectale relevée une heure après administration et de la température initiale avant injection. \* $p < 0,05$  ; \*\* $p < 0,01$  ; \*\*\* $p < 0,001$  significativement différent du groupe saline ; YY $p < 0,01$  significativement différent des autres jours (Student t test).

### 3. Evolution du poids des petits

L'ANOVA à trois facteurs (exposition prénatale X sexe X jours postnataux) avec mesures répétées sur le dernier, montre un effet important des jours de vie postnatale sur le poids des petits dans la première et la deuxième séries d'expérience [ $F(3,66)=1871$  ;  $p<0,0001$  et  $F(3,57)=3061$  ;  $p<0,0001$ , respectivement], et un effet du sexe uniquement dans la première série [ $F(1,22)=6,42$  ;  $p<0,05$ ]. Aucun effet de l'exposition prénatale, ni d'interaction entre les différents facteurs n'est observé. Qu'ils soient du groupe Saline ou MDMA, mâles ou femelles, les petits gagnent très normalement du poids au cours de leur croissance. Les mâles présentent une prise de poids significativement plus importante que les femelles.

A P1, une ANOVA à deux facteurs a été cependant réalisée. Dans la première série expérimentale, le poids corporel des petits exposés au MDMA est significativement inférieur à celui des individus témoins [effet de l'exposition prénatale,  $F(1,26)=16,97$  ;  $p<0,001$ ]. Cette différence n'est pas observable dans la deuxième série expérimentale, ni à d'autres stade de développement (Tableau 16).

**Tableau 16 : Evolution du poids des petits de la naissance au sevrage en fonction de l'exposition prénatale et du sexe.**

		P1		P7		P14		P20	
		Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2	Série 1	Série 2
Mâle	Saline	7,41 ± 0,31	6,97 ± 0,21	16,75 ± 0,79	16,15 ± 0,41	38,27 ± 1,33 <sup>§</sup>	30,85 ± 0,63	63,87 ± 2,01 <sup>§</sup>	40,60 ± 1,08
		6,52 ± 0,11 <sup>a</sup>	6,61 ± 0,09	15,87 ± 0,38	16,06 ± 0,17	35,50 ± 0,70	31,04 ± 0,26	60,14 ± 1,46 <sup>£</sup>	41,59 ± 0,44
	MDMA	7,21 ± 0,29	6,44 ± 0,14	16,73 ± 0,77	15,66 ± 0,15	35,47 ± 1,33	29,55 ± 0,60	58,91 ± 2,71	38,33 ± 0,95
		6,15 ± 0,08 <sup>b</sup>	6,72 ± 0,06	14,94 ± 0,42	16,03 ± 0,06	33,15 ± 1,09	30,46 ± 0,25	56,61 ± 1,87	40,37 ± 0,39

Les valeurs représentent la moyenne ± S.E.M. du poids corporel en gramme des petits exposés en période prénatale au MDMA ou au sérum physiologique (saline). Les deux séries d'exposition sont représentées. (Série 1: n=8 mâles et femelles Saline, n=7 mâles et femelles MDMA; Série 2: n=6 mâles et femelles Saline et MDMA).

Effet de l'exposition prénatale : <sup>a</sup> $p<0,05$  significativement différent des mâles Saline. <sup>b</sup> $p<0,01$  significativement différent des femelles Saline.

Effet du sexe: <sup>§</sup> $p<0,05$  significativement différent des femelles Saline. <sup>£</sup> $p<0,05$  significativement différent des femelles MDMA (test de Fisher).

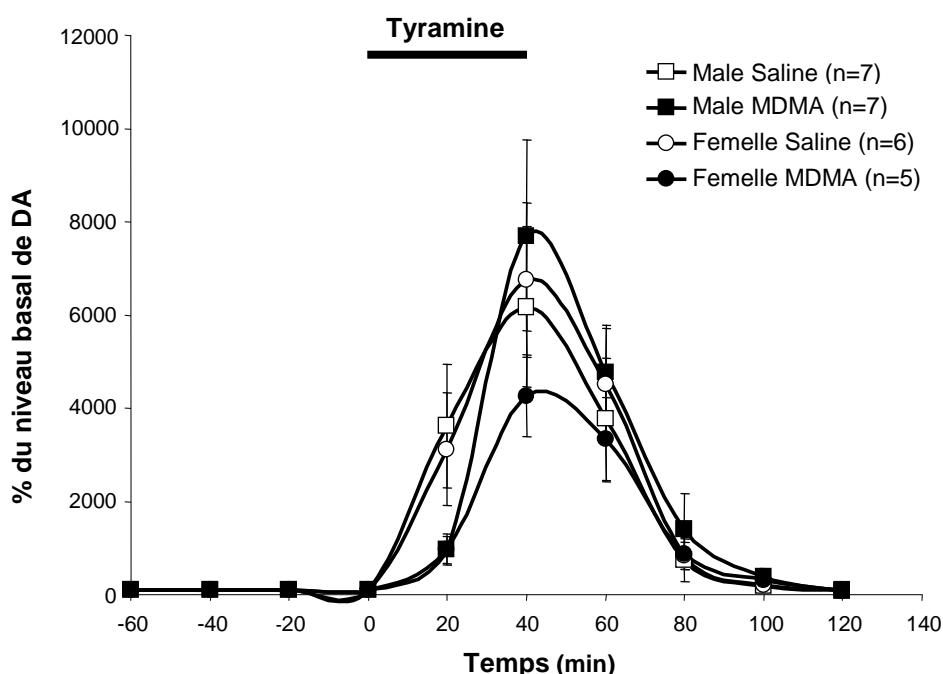


## **B. Etude par microdialyse des taux vésiculaires de DA vésiculaire libérée sous stimulation à la tyramine**

### **1. Noyau Accumbens**

La perfusion de tyramine au niveau du NAc induit une augmentation massive de la concentration extracellulaire de DA dans les quatre groupes d'animaux (Figure 22).

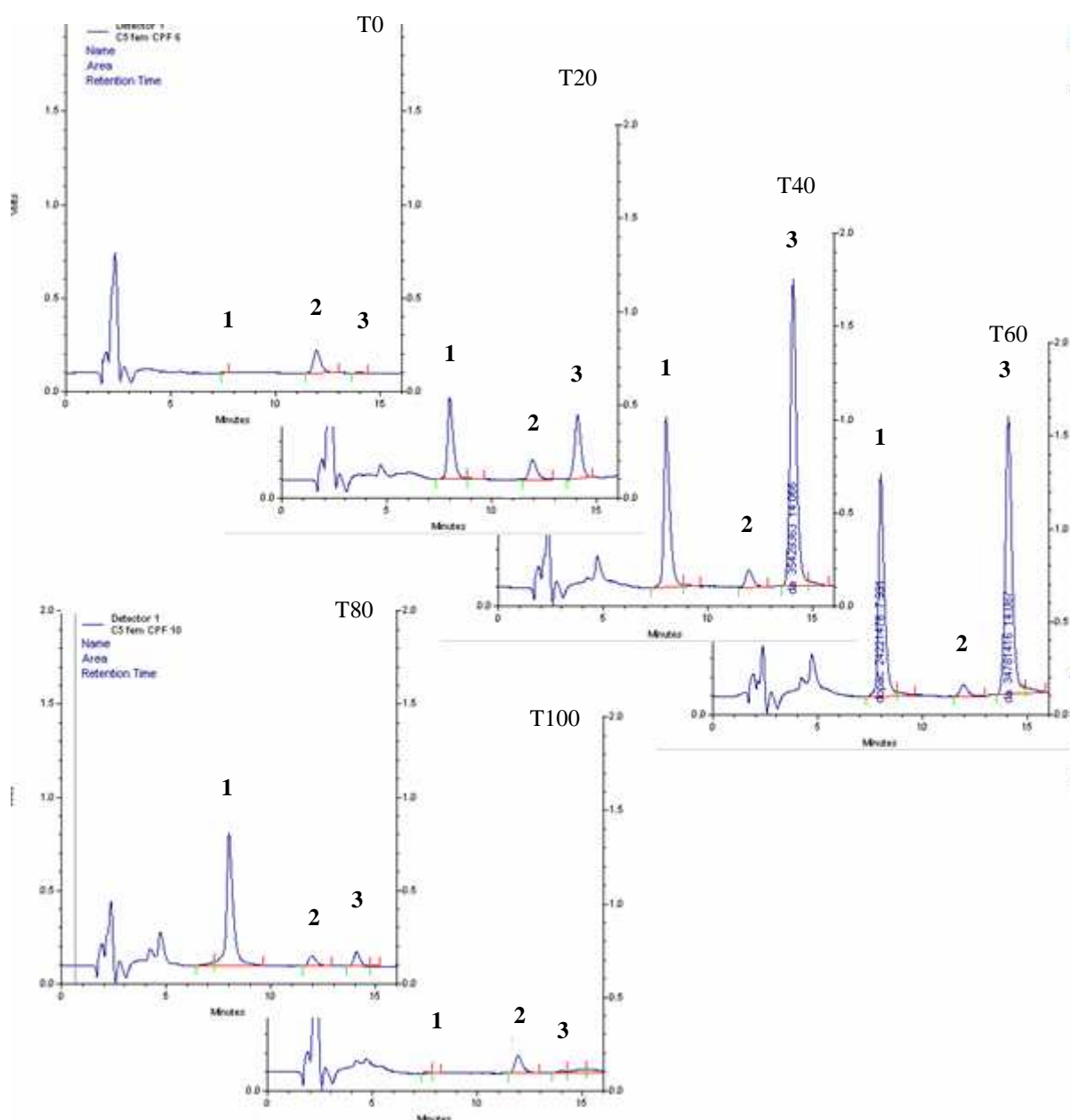
Après 40 min de perfusion, le maximum de la stimulation est atteint ; la concentration de DA est augmentée de  $6177 \pm 1730$  % et de  $6757 \pm 1661$  % par rapport à la concentration basale chez les animaux Saline mâles et femelles respectivement. Cette augmentation de DA induite par la tyramine est retrouvée chez les animaux exposés en période prénatale au MDMA sans différence significative par rapport aux témoins (pas de différence entre les 4 groupes, Kruskal-Wallis). Cependant, il est à noter que la libération de la DA chez les mâles MDMA est presque deux fois supérieure à celle des femelles MDMA ( $7700 \pm 2050$  % vs  $4269 \pm 880$  % de la concentration basale). Les taux de DA extracellulaire de chaque groupe retrouvent ensuite progressivement leur concentration basale dans les 60 min suivant le pic.



**Figure 22 : Effet de la perfusion in situ de tyramine (0,6 mM) sur les taux de dopamine extracellulaire au niveau du Noyau Accumbens des rats mâles et femelles vigiles adultes (P70) exposés en période prénatale au MDMA ou au sérum physiologique (Saline).** Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.M. des pourcentages du niveau basal de dopamine. L'analyse statistique réalisée à l'aide du test Kruskal Wallis ne révèle aucun effet de l'exposition prénatale, ni du sexe sur les taux de DA dans le milieu extracellulaire.

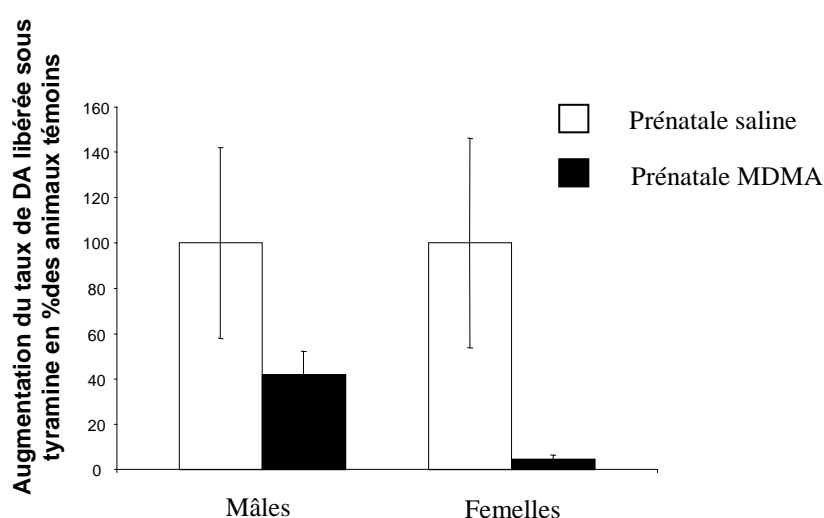
## 2. Cortex Préfrontal

La perfusion de tyramine au niveau du cortex préfrontal induit une forte augmentation de la concentration extracellulaire de DA dans les quatre groupes d'animaux étudiés. Après 40 min de perfusion (T40), le maximum de la stimulation est atteint. Les taux de DA extracellulaire de chaque groupe retrouvent ensuite progressivement leur concentration basale dans les 60 min suivant le pic (Figure 23).



**Figure 23: Exemple de chromatogrammes obtenus au cours de la stimulation à la tyramine dans le cortex préfrontal chez un animal. T, temps en minutes. 1 : DOPAC ; 2 : 5-HIAA ; 3 : DA.**

Cependant, l'analyse des chromatogrammes a révélé chez les quatre groupes d'animaux des pourcentages d'augmentation de la concentration de DA à la suite de la stimulation à la tyramine par rapport aux concentrations basales très en deà des pourcentages obtenus habituellement dans ce type de protocole expérimental. Puisque aucune explication physiologique ne peut justifier de telles augmentations, nous avons conclu sur la survenue d'un problème technique. De ce fait, nous avons choisi d'exprimer l'augmentation de la DA libérée au maximum de la stimulation par rapport à la libération basale, de façon relative à celle des animaux témoins (qui devient notre 100%). Ainsi, ce mode d'expression des résultats permet de s'absoudre des valeurs absolues de la concentration de DA (Figure 24).



**Figure 24 : Augmentation du taux de DA extracellulaire libérée sous stimulation pharmacologique par rapport à la libération basale dans le CPF chez des rats mâles et femelles vigiles adultes (P70) exposés en période prénatale au MDMA.** Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.M. du pourcentage de libération de la DA des animaux témoins (saline) au maximum de la stimulation (40 min de perfusion).

Ces résultats suggèrent que le taux de DA libérée sous stimulation à la tyramine est moins important chez les animaux exposés en période prénatale au MDMA par rapport aux animaux témoins, et que cette tendance semble être plus forte chez les femelles.

## **C. Etude autoradiographique de différents marqueurs neuronaux dopaminergiques**

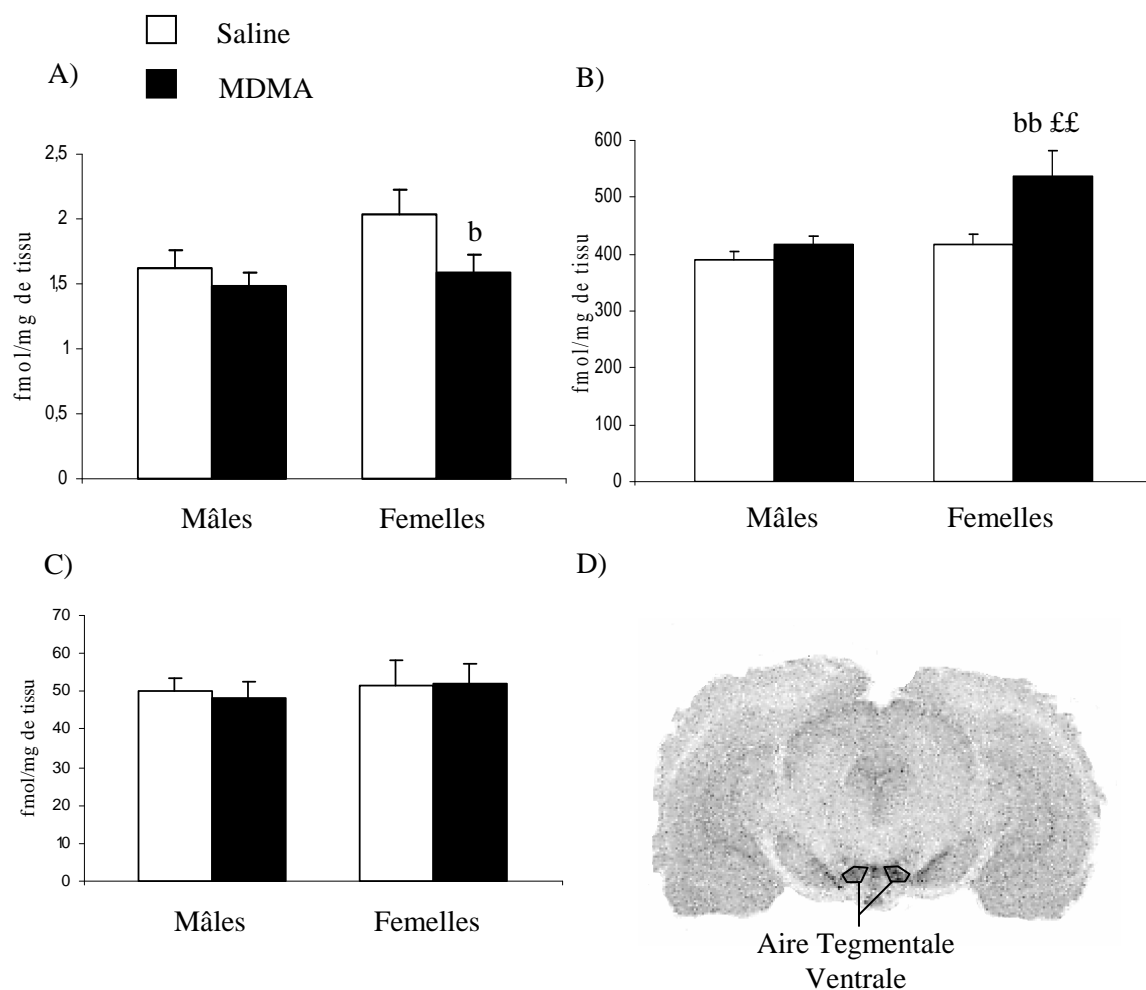
### **1. Voie mésocorticolimbique**

#### **a. Aire tegmentale ventrale**

Une ANOVA à deux facteurs révèle un effet de l'exposition prénatale ( $F(1,19)=4,09$  ;  $p<0,05$ ) sur la fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I au DAT dans l'ATV, mais ne met en évidence ni d'effet du sexe, ni d'interaction entre l'exposition prénatale et le sexe (Figure 25 A). Bien que les mâles MDMA ne présentent pas de différence statistiquement significative par rapport aux mâles Saline ( $1,47 \pm 0,10$  vs.  $1,61 \pm 0,15$  fmol/mg respectivement), la fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I au DAT est significativement diminuée ( $p<0,05$ ) chez les femelles MDMA par rapport aux femelles Saline ( $1,58 \pm 0,14$  vs.  $2,03 \pm 0,19$  fmol/mg respectivement).

Sur la fixation de [ $^3$ H]-DTBZ, un ligand spécifique du VMAT2, une ANOVA à deux facteurs montre un effet global de l'exposition prénatale ( $F(1,19)=6,98$  ;  $p<0,05$ ) et du sexe ( $F(1,10)=6,98$  ;  $p<0,05$ ), sans interaction entre ces deux facteurs. La fixation du [ $^3$ H]-DTBZ dans l'ATV chez la progéniture femelle MDMA ( $538,3 \pm 44,5$  fmol/mg) est significativement supérieure à celle de la progéniture femelle Saline ( $417,7 \pm 18,5$  fmol/mg) et mâle MDMA ( $415,9 \pm 17,6$  fmol/mg), avec dans les deux cas un  $p<0,01$  (Figure 25 B).

Aucune différence significative n'est observée entre les quatre groupes expérimentaux sur la fixation spécifique du [ $^3$ H]-YM-091516-2, un ligand spécifique des RD2, au niveau de l'ATV (Figure 25 C).



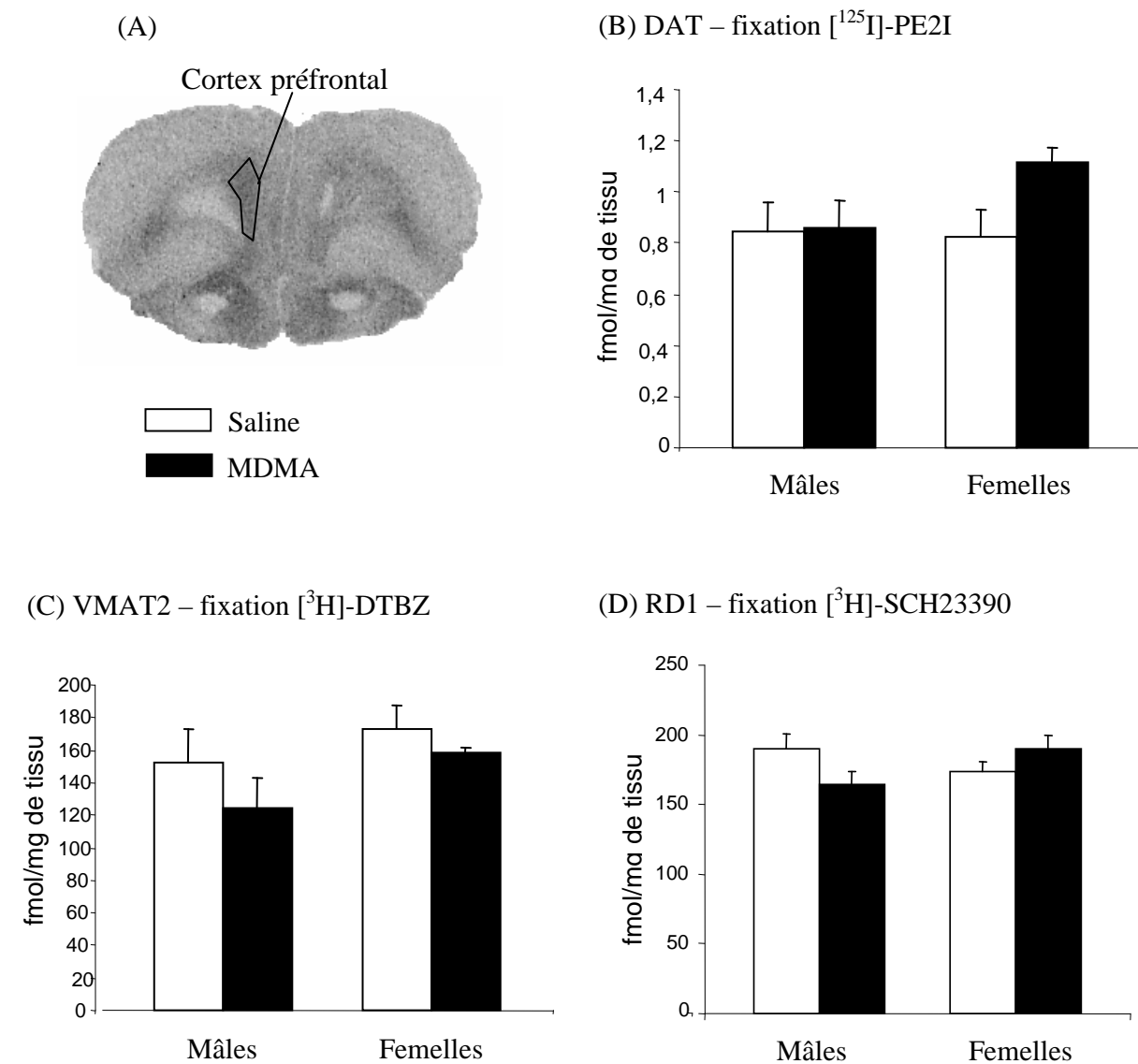
**Figure 25 : Fixation du [ $^{125}\text{I}$ ]-PE2I (A), du [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ (B) et du [ $^3\text{H}$ ]-YM-09151-2 (C) dans l'ATV [localisée sur une coupe frontale marquée au [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ (D)], d'animaux adultes mâles et femelles exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA. n=6 dans chaque groupe. Effet de l'exposition prénatale : b  $p < 0,05$ ; bb  $p < 0,01$  significativement différent des femelles Saline. Effet du sexe : ££,  $p < 0,01$  significativement différent des mâles MDMA. (ANOVA à deux facteurs, suivie du test de Fischer).**

## **b. Cortex préfrontal**

L'analyse de variance ANOVA réalisée sur la fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I au DAT dans le CPF ne révèle aucun effet de l'exposition prénatale et du sexe, ni d'interaction entre ces deux facteurs (Figure 26B). Cependant, il est intéressant de noter que chez les femelles exposées en prénatal au MDMA, la fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I est supérieure d'environ 35% à celle retrouvée chez les femelles témoins ( $1,12 \pm 0,06$  vs.  $0,82 \pm 0,11$  fmol/mg respectivement).

Bien qu'une tendance à la diminution soit observable sur la fixation du [ $^3$ H]-DTBZ au VMAT2 dans le CPF chez les rats MDMA par rapport aux témoins, l'analyse par ANOVA ne met pas en évidence de significativité dans l'effet de l'exposition prénatale et du sexe, ni d'interaction entre ces deux facteurs (Figure 26C).

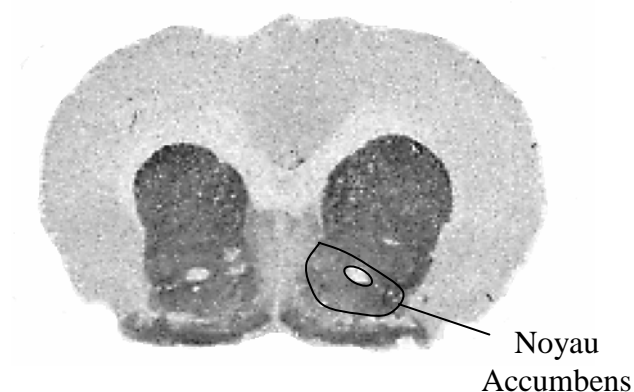
Sur la fixation du [ $^3$ H]-SCH23390 au RD1, l'analyse de variance ANOVA ne révèle aucun effet de l'exposition prénatale, ni du sexe. Cependant, elle met en évidence une interaction entre ces deux facteurs [ $F(1,18)=6,03$ ,  $p<0,05$ ] : alors que chez les mâles exposés au MDMA, la fixation du radioligand est diminuée de 14%, chez les femelles exposées au MDMA elle est augmentée de 10% par rapport aux témoins respectifs (Figure 26D).



**Figure 26 : Fixation au niveau du cortex préfrontal [localisé sur une coupe frontale marquée au [ $^3$ H]-SCH23390 (A)], du [ $^{125}$ I]-PE2I (B), du [ $^3$ H]-DTBZ (C) et du [ $^3$ H]-SCH23390 (D), d'animaux adultes mâles et femelles exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA. n=6 dans chaque groupe.**

### c. Noyau accumbens

L'analyse statistique ne révèle aucun effet de l'exposition prénatale et du sexe, ni d'interaction entre ces deux facteurs sur la fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I et du [ $^3$ H]-DTBZ au niveau du NAc (Figure 27, Tableau 17).



**Figure 27 : Autoradiographie de la fixation du [ $^3$ H]-DTBZ au VMAT2 sur une coupe frontale de cerveau au niveau du noyau accumbens.**

**Tableau 17 : Densité en [ $^{125}$ I]-PE2I et [ $^3$ H]-DTBZ au niveau du noyau accumbens de rats adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (saline) ou au MDMA. Résultats exprimés en fmol de ligand / mg de tissu.**

	Mâles saline (n=6)	Mâles MDMA (n=6)	Femelles saline (n=6)	Femelles MDMA (n=6)
[ $^{125}$ I]-PE2I	2,86 ± 0,27	3,22 ± 0,21	3,20 ± 0,41	3,22 ± 0,22
[ $^3$ H]-DTBZ	758,51 ± 52,64	731,25 ± 33,80	769,48 ± 66,36	790,38 ± 72,46



## 2. Voie nigro striée

### a. Substance noire compacte

L'ANOVA révèle un effet global de l'exposition prénatale [ $F(1,19)=8,69$  ;  $p<0,01$ ] sur la fixation de [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ au niveau de la SNc des rats adultes. Chez les mâles et femelles exposés en période prénatale au MDMA, la fixation de [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ est augmentée respectivement de 17 et 18% par rapport aux rats témoins, mais cet effet n'est statistiquement significatif que chez les femelles ( $p<0,05$ ). Un effet principal du sexe est aussi mis en évidence [ $F(1,19)=9,37$  ;  $p<0,01$ ] : les femelles présentent globalement un taux de fixation supérieur à celui des mâles, de façon significative uniquement au sein des groupes MDMA (+19%,  $p<0,05$ ). Aucune interaction entre l'exposition prénatale et le sexe n'est observée (Figure 28 B).

Les autoradiographies au [ $^{125}\text{I}$ ]-PE2I et [ $^3\text{H}$ ]-YM-09151-2 ne permettent pas de déceler de différence significative en densité de DAT et de RD2 au niveau de la SNc (Figure 28 A et C).

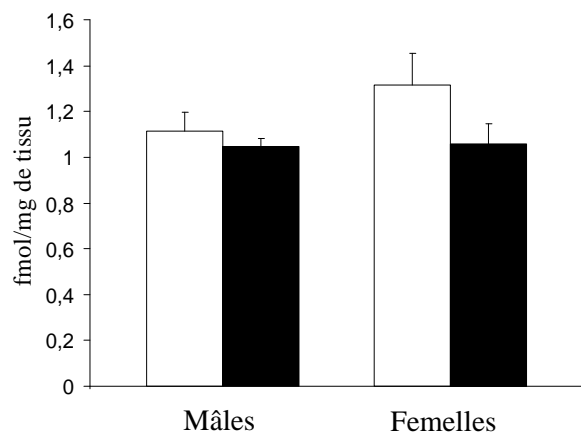
### b. Striatum

Aucun effet, ni de l'exposition prénatale, ni du sexe, ni d'interaction entre l'exposition prénatale et le sexe, n'est observable entre les groupes expérimentaux, sur la fixation du [ $^{125}\text{I}$ ]-PE2I au DAT et du [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ au VMAT2 dans le striatum (Tableau 18).

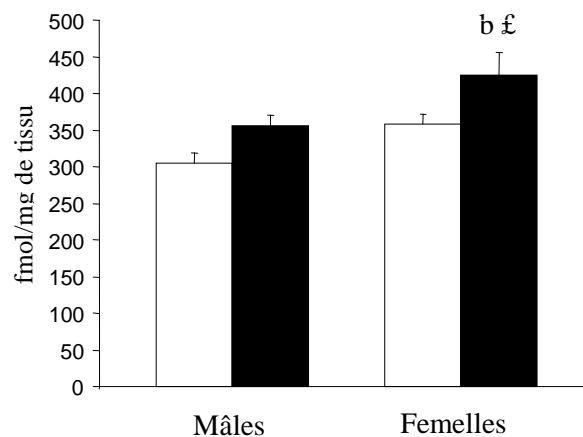
**Tableau 18 : Densité de [ $^{125}\text{I}$ ]-PE2I et de [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ au niveau du striatum chez les rats adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (saline) ou MDMA. Résultats exprimés en fmol de ligand / mg de tissu.**

	Mâles Saline (n=6)	Mâles MDMA (n=6)	Femelles Saline (n=6)	Femelles MDMA (n=6)
[ $^{125}\text{I}$ ]-PE2I	5,18 $\pm$ 0,63	5,79 $\pm$ 0,29	5,89 $\pm$ 0,57	5,93 $\pm$ 0,36
[ $^3\text{H}$ ]-DTBZ	923,43 $\pm$ 74,77	833,70 $\pm$ 32,87	1030,22 $\pm$ 79,19	909,21 $\pm$ 79,24

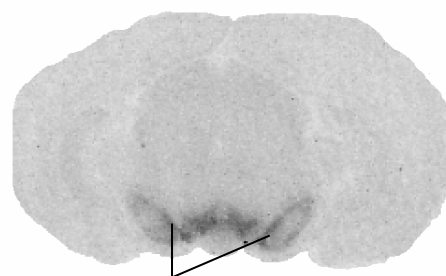
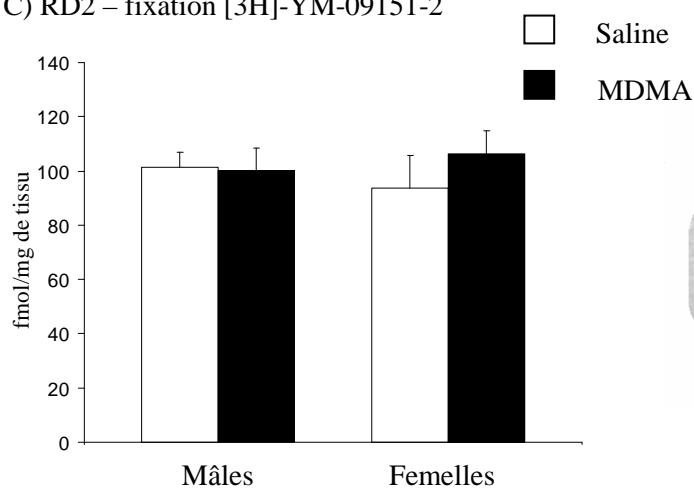
A) DAT - fixation [ $^{125}$ I]-PE2I



B) VMAT2 – fixation [ $^3$ H]-DTBZ



C) RD2 – fixation [ $^3$ H]-YM-09151-2

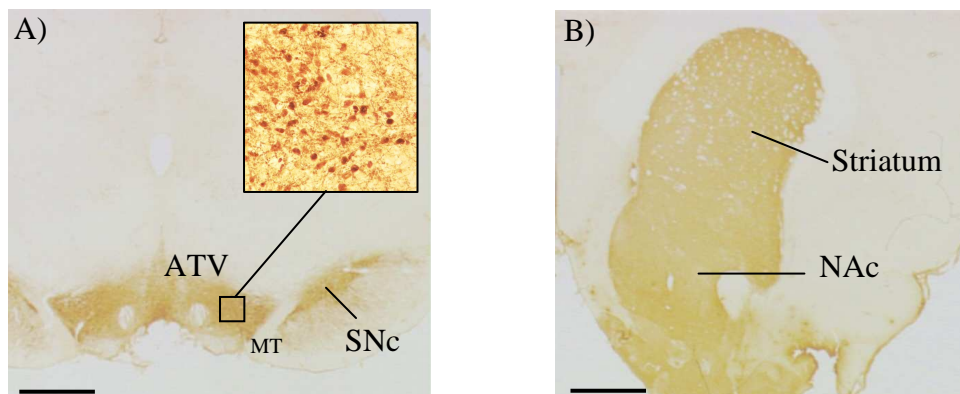


D) Substance noire compacta

**Figure 28 : Fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I (A), du [ $^3$ H]-DTBZ (B) et du [ $^3$ H]-YM-09151-2 (C) dans la SNc [localisée sur une coupe frontale marquée au [ $^{125}$ I]-PE2I (D)] d'animaux adultes mâles et femelles exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA. n=6 pour chaque groupe. Effet de l'exposition prénatale : b  $p < 0.05$  significativement différent des femelles Saline. Effet du sexe : £  $p < 0.05$  significativement différent des mâles MDMA.**

#### **D. Immunohistochimie anti-tyrosine hydroxylase**

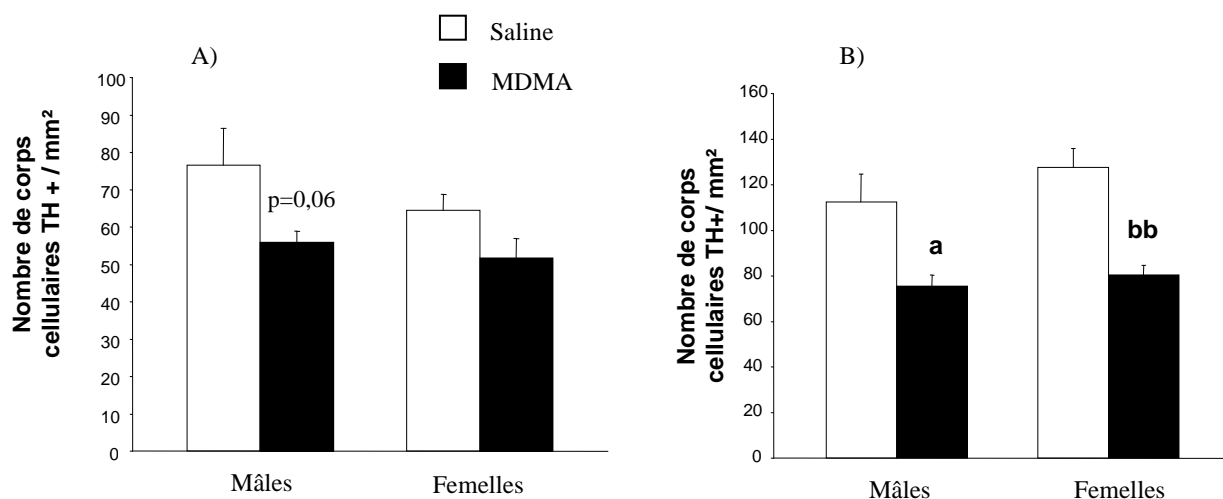
Le marquage de la tyrosine hydroxylase (TH) est observé au niveau des corps cellulaires des neurones des voies mésocorticolimbiques et nigrostriée (Figure 29 A) et au niveau des projections axonales de la voie mésolimbique d'une part et nigrostriée d'autre part (Figure 29 B).



**Figure 29 : Marquage immunohistochimique de la tyrosine hydroxylase sur coupe frontale au niveau A) : de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et de la substance noire compacta (SNc), au niveau où le noyau terminal médian du tractus optique accessoire (MT) divise la SNc et l'ATV. B) : du striatum et noyau accumbens (NAc).**

Dans l'ATV, une ANOVA à deux facteurs révèle un effet global de l'exposition prénatale [ $F(1,17)=6,11$  ;  $p<0,05$ ], mais pas d'effet du sexe, ni d'interaction de l'exposition prénatale avec le sexe, sur le nombre de corps cellulaires TH-positifs (TH+). Chez les animaux exposés au MDMA, il est diminué de 27 et 20% par rapports aux rats témoins, respectivement pour les mâles et les femelles. Cependant, cet effet de l'exposition prénatale n'est pas statistiquement significatif quand il est analysé a posteriori de façon indépendante pour chaque sexe (Figure 30 A).

Dans la SNc (Figure 30 B), l'analyse révèle un effet global de l'exposition prénatale [ $F(1,18)=27,15$  ;  $p<0,0001$ ], mais pas d'effet du sexe, ni d'interaction de l'exposition prénatale avec le sexe, sur le nombre de corps cellulaires TH+. Chez les mâles exposés au MDMA, le nombre de corps cellulaires TH+ est significativement diminué de 33% par rapports aux rats témoins ( $p<0,05$ ), et chez les femelles, il est diminué de 37% ( $p<0,01$ ).



**Figure 30 : Nombre de corps cellulaires immunoréactifs à la tyrosine hydroxylase au niveau de l'aire tegmentale ventrale (A) et de la substance noire compacta (B) de rats adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA. n=6 dans chaque groupe.**  
Effet de l'exposition prénatale : a p<0,05 significativement différents des mâles Saline ; bb p<0,01 significativement différents des femelles Saline. Pas d'effet du sexe (test de Fisher).

Au niveau des deux aires de projections dopaminergiques étudiées, le NAc et le striatum, aucune différence significative n'est observée sur la densité optique du marquage des fibres TH+, entre les quatre groupes (Tableau 19).

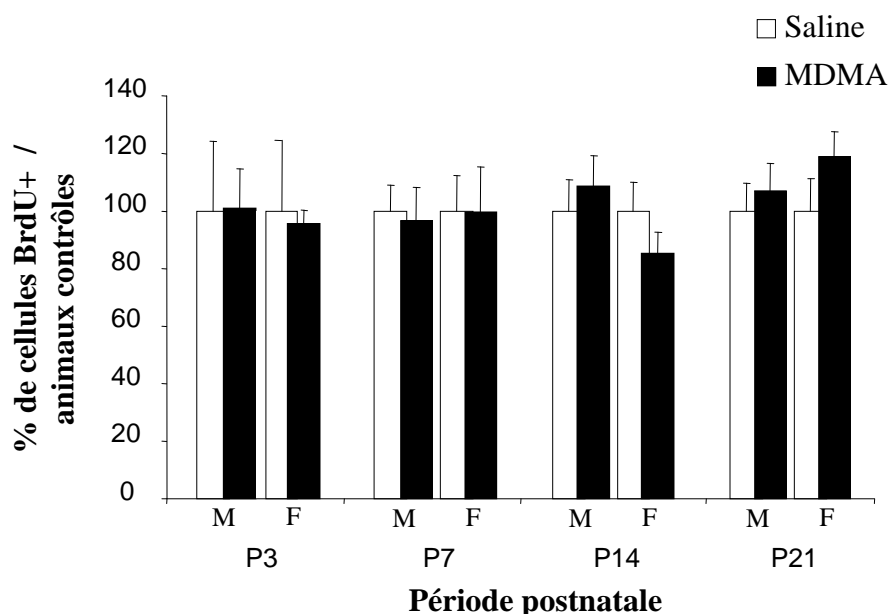
**Tableau 19 : Densité des projections neuronales marquées à la tyrosine hydroxylase au niveau du noyau accumbens (NAc) et du striatum**, chez les animaux adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (saline) ou au MDMA. (U.A. : unité arbitraire).

	Mâles Saline (n=6)	Mâles MDMA (n=6)	Femelles Saline (n=6)	Femelles MDMA (n=5)
Densité optique (U.A.)				
NAc	17,9 ± 0,6	18,1 ± 1,8	17,9 ± 1,7	17,6 ± 1,6
Striatum	22,3 ± 1,7	22,4 ± 1,4	24,1 ± 1,7	22,7 ± 1,6

## E. Prolifération cellulaire

### 1. Chez la progéniture en développement

La prolifération cellulaire a été évaluée au niveau de la zone subgranulaire (SGZ) du gyrus dentelé (DG). Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules marquées au BrdU par rapport aux animaux témoins (Saline). A chaque stade de vie postnatale étudié, l'analyse de variance ne révèle aucune différence entre les quatre groupes expérimentaux (Figure 31).



**Figure 31 : Prolifération cellulaire évaluée à différents stades de développement au niveau du gyrus dentelé** de rats mâles (M) et femelles (F) exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules marquées au BrdU des animaux Saline. Aucune différence statistique n'est observable.

### 2. Chez l'adulte

Aucune différence significative n'existe entre les différents groupes, que ce soit en termes de nombre de cellules marquées ou de clusters présents par SGZ. De même au niveau des ventricules latéraux, l'analyse statistique ne met pas en évidence de différence sur le nombre de cellules marquées au BrdU entre les différents groupes expérimentaux (Tableau 20).

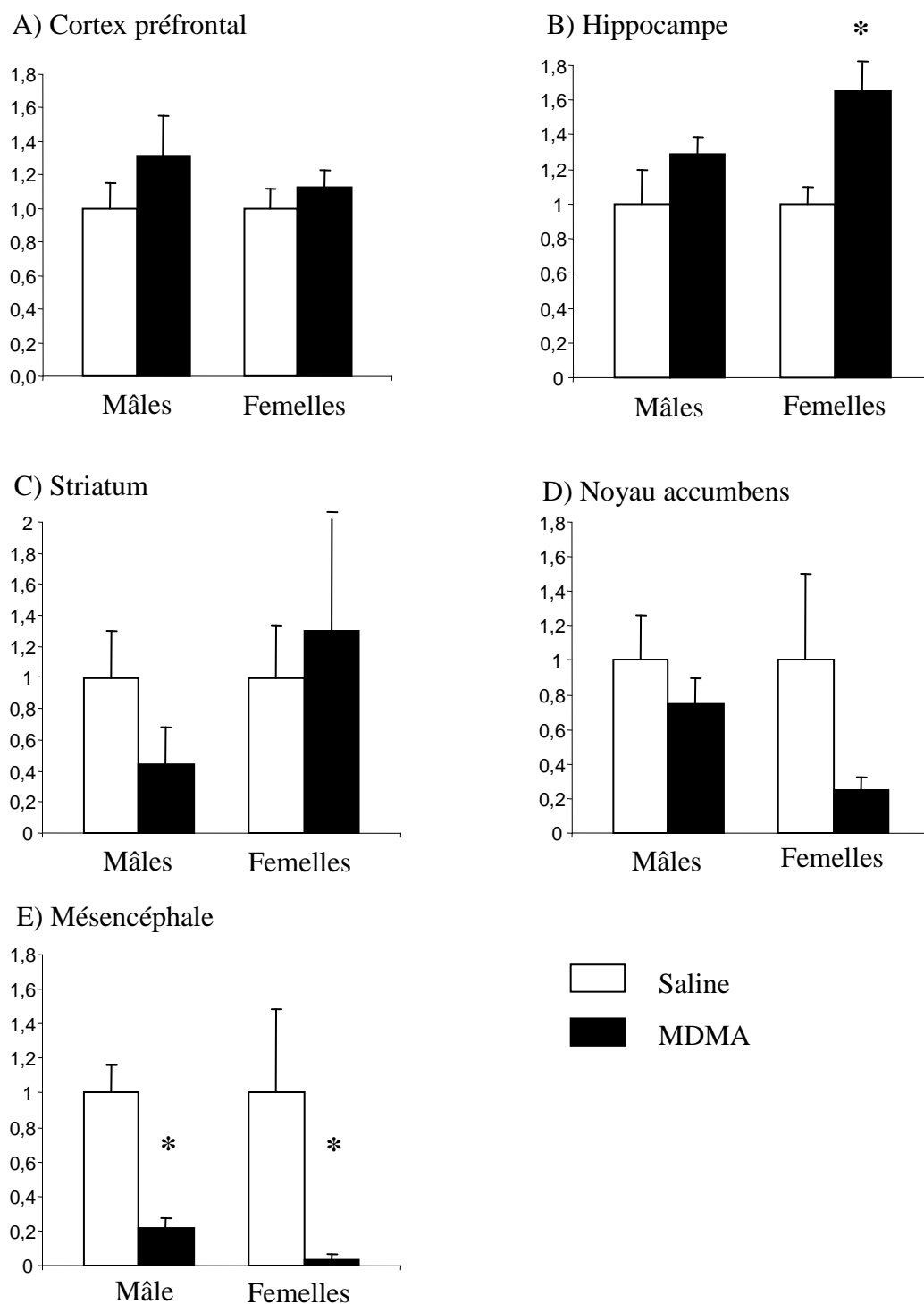
**Tableau 20 : Prolifération cellulaire dans la zone subgranulaire du gyrus dentelé (SGZ) et de la zone subventriculaire (SVZ) de rats adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (Saline) ou au MDMA.**

	Mâles Saline (n=6)	Mâles MDMA (n=6)	Femelles Saline (n=5)	Femelles MDMA (n=6)
<u>SGZ</u>				
Nombre total de cellules BrdU+/ SGV	11,5 ± 1,5	12,0 ± 2,2	11,3 ± 1,2	10,8 ± 0,7
Nombre clusters /DG	1,8 ± 0,2	1,7 ± 0,2	1,8 ± 0,3	1,6 ± 0,1
<u>SVZ</u>				
Nombre total cellules BrdU+/ mm <sup>2</sup> de SVZ	741 ± 88	747 ± 87	742 ± 71	774 ± 60

## ***F. Quantification de l'ARNm codant pour le BDNF***

L'expression du gène du BDNF est évaluée par quantification relative des ARNm de BDNF à l'aide de la RT-PCR en temps réel, au niveau de différentes structures cérébrales chez les individus adultes mâles et femelles témoins (Saline) ou exposés en période prénatale au MDMA (Figure 32). Dans chaque échantillon, l'expression du gène GAPDH est mesurée et utilisée comme contrôle interne.

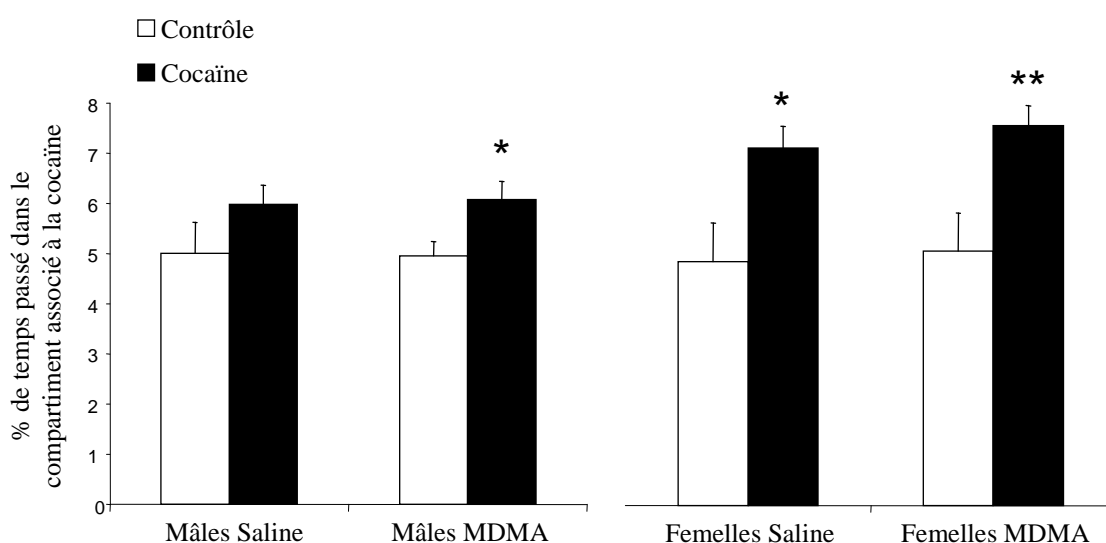
Une ANOVA à deux facteurs révèle un effet global de l'exposition prénatale sur le taux d'ARNm du BDNF au niveau de l'hippocampe [ $F(1,17)=9,04$  ;  $p<0,01$ ] et du mésencéphale [ $F(1,15)=10,13$  ;  $p<0,01$ ]. Aucun effet du sexe n'est observé, ni d'interaction entre l'exposition prénatale et le sexe. L'effet de l'exposition prénatale est statistiquement analysé à posteriori pour chaque sexe dans ces deux dernières structures. Au niveau de l'hippocampe, les taux d'ARNm du BDNF sont augmentés significativement seulement chez les femelles exposées au MDMA par rapport à ceux des femelles témoins ( $p<0,05$ ). Au niveau du mésencéphale, les taux d'ARNm du BDNF sont significativement diminués chez les mâles et les femelles exposés au MDMA par rapport à ceux des animaux témoins ( $p<0,05$ ).



**Figure 32 : Expression relative du gène du BDNF mesurée par RT-PCR en temps réel, au niveau A) du cortex préfrontal, B) de l'hippocampe, C) du striatum, D) du noyau accumbens et E) du mésencéphale de rats mâles et femelles adultes exposés en période prénatale au liquide physiologique (saline) ou au MDMA (n=4-6, dans chaque groupe). Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.M. du pourcentage de la valeur des individus témoins (ANOVA à deux facteurs, suivi du test de Fisher : effet de l'exposition prénatale, \*  $p < 0,05$ ).**

## G. Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne

Tous les groupes d'animaux testés à la cocaïne démontrent une préférence de lieu conditionnée dans ce paradigme caractérisée par une augmentation du pourcentage de temps passé dans le compartiment associé à la cocaïne par rapport à celui des animaux contrôles. Cette augmentation est statistiquement significative chez les femelles Saline (+22,6%,  $p<0,05$ ) et chez les mâles (+11,2%,  $p<0,05$ ) et femelles (+24,9%,  $p<0,01$ ) exposés au MDMA (Figure 33).



**Figure 33 : Effet de l'exposition prénatale au MDMA sur la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne** chez des rats adultes mâles (A) et femelles (B). Les histogrammes représentent la moyenne  $\pm$  S.E.M. du pourcentage de temps passé dans le compartiment associé à la cocaïne au cours des 10 minutes de test ( $n=6$  dans chaque groupe). \* $p<0,05$  ; \*\* $p<0,01$  significativement différents des groupes contrôles (Mann Whitney).

Aucune différence du temps passé dans le compartiment associé à la cocaïne entre les animaux Saline et MDMA n'est observé ( $59,8 \pm 3,8$  vs  $60,8 \pm 3,6$  % chez les mâles et  $71,0 \pm 4,3$  vs  $75,5 \pm 4,0$  % chez les femelles).



## II. Effets d'une exposition prénatale au MPH sur les systèmes dopaminergiques du rat adulte

### A. Paramètres physiologiques

Le traitement au MPH n'altère pas la prise de poids des rates du 13 au 20<sup>ème</sup> jour de gestation (Tableau 21). Aucun effet tératogène n'est observé sur la progéniture : le nombre de petits par portée à terme ne diffère pas entre le groupe Saline et MPH, avec un ratio mâle/femelle qui reste équilibré dans les deux groupes.

**Tableau 21 : Caractéristiques physiologiques des rates gestantes pendant la période d'exposition au MPH et des portées à la naissance.**

	Exposition prénatale	
	Saline (n=7)	MPH (n=7)
Mère gestante		
Prise de poids (g) G13-20	64,14 ± 6,64	59,14 ± 3,37
Portée à la naissance		
Nombre total	8,43 ± 1,46	11,14 ± 0,34
Ratio mâle/femelle	1,18 ± 0,35	1,16 ± 0,29
Nombre de mâles	3,85 ± 0,96	5,14 ± 0,67
Nombre de femelles	4,57 ± 0,75	6,00 ± 0,69

La prise de poids des mères gestantes est calculée pendant la période d'exposition. Les valeurs représentent la moyenne ± S.E.M.

L'ANOVA à trois facteurs (exposition prénatale X sexe X jours postnataux) avec mesures répétées sur le dernier, montre un effet important des jours de vie postnatale sur le poids corporel des petits [ $F(3,63)=1532$  ;  $p<0,0001$ ]. Aucun effet de l'exposition prénatale, du sexe, ni d'interaction entre les différents facteurs n'est observé. Ainsi, tous les rats étant du groupe Saline ou MPH, mâles ou femelles, gagnent très normalement du poids au cours de leur croissance (Tableau 22).

**Tableau 22 : Evolution du poids des petits de la naissance au sevrage en fonction de l'exposition prénatale et du sexe.**

		P1	P7	P14	P20
Mâles	Saline	7,3 ± 0,16	16,5 ± 1,06	38,3 ± 1,52	63,5 ± 2,95
	MPH	7,1 ± 0,15	15,9 ± 0,49	35,8 ± 1,0	61,7 ± 1,46
Femelles	Saline	6,8 ± 0,11	16,7 ± 0,57	37,9 ± 1,48	62,4 ± 2,10
	MPH	6,8 ± 0,17	15,5 ± 0,54	35,7 ± 1,53	58,5 ± 2,87

Les valeurs représentent la moyenne ± S.E.M. du poids en gramme des petits exposés en période prénatale au MPH ou au sérum physiologique (Saline).

## ***B. Etude par microdialyse des taux de DA vésiculaire libérée sous stimulation à la tyramine***

### **1. Noyau Accumbens**

La perfusion de tyramine induit une augmentation massive de la concentration extracellulaire de DA dans les quatre groupes d'animaux étudiés au niveau du NAc (Figure 34 A).

Après 40 min de perfusion, le maximum de la stimulation est atteint. La concentration de DA est augmentée de  $4787 \pm 1276$  % et de  $3167 \pm 412$  % par rapport à la concentration basale chez les animaux Saline mâles et femelles respectivement.

L'analyse des variances réalisée par le test de Kruskal-Wallis montre qu'il existe des différences dans le pourcentage de DA libérée entre les 4 groupes expérimentaux au maximum de la stimulation ( $H=11,19$  ;  $p=0,01$ ). Les comparaisons par paire réalisées à posteriori à l'aide du test de Mann-Whitney, montrent qu'il existe un effet de l'exposition prénatale tant chez les mâles ( $U=23$  ;  $p<0,05$ ) que chez les femelles ( $U=31$  ;  $p<0,05$ ). Les mâles exposés en période prénatale au MDMA présentent une augmentation de la DA libérée 3 fois plus faible que les mâles témoins. De même, cette augmentation est diminuée de moitié chez les femelles MDMA par rapport à leurs témoins. Aucune différence entre les sexes n'est statistiquement significative.

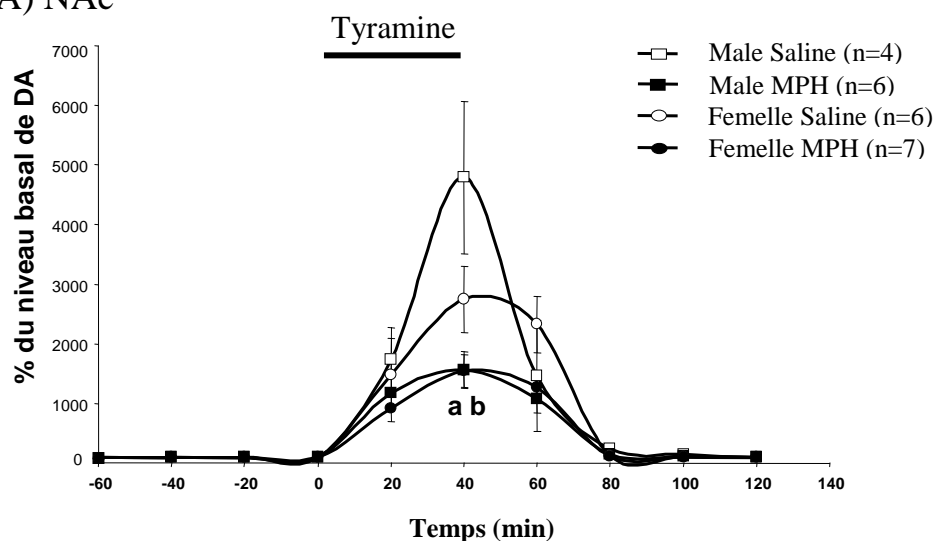
### **2. Cortex préfrontal**

La perfusion de tyramine induit une augmentation massive de la concentration extracellulaire de DA dans les quatre groupes d'animaux étudiés au niveau du cortex préfrontal (Figure 34 B).

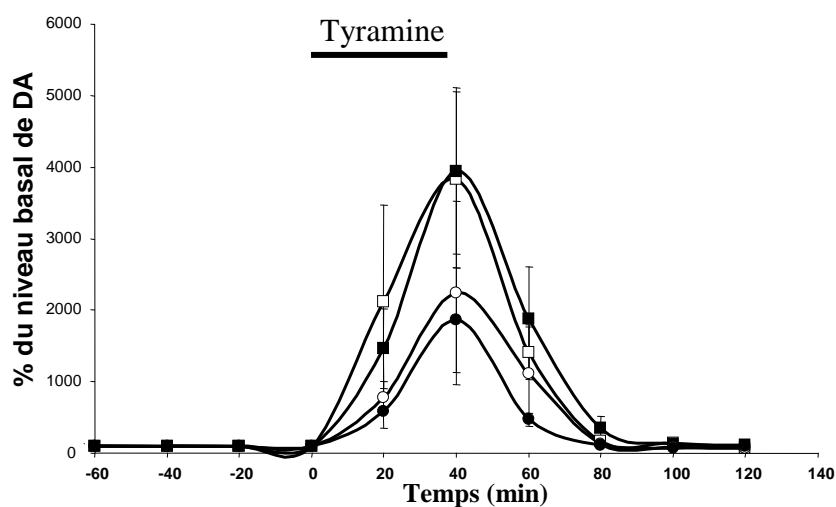
Après 40 min de perfusion, le maximum de la stimulation est atteint. La concentration de DA est augmentée de  $3822 \pm 1234$  % et de  $2243 \pm 1284$  % par rapport à la concentration basale chez les animaux Saline mâles et femelles respectivement. Aucune différence

statistiquement significative n'est observée entre les 4 groupes expérimentaux au cours de la stimulation dans le CPF (Kruskal-Wallis).

#### A) NAc



#### B) CPF



**Figure 34 : Effet de la perfusion in situ de tyramine sur les taux de dopamine (DA) extracellulaire dans le noyau accumbens (A) NAc et le cortex préfrontal (B) CPF des rats mâles et femelles vigiles adultes (P70) exposés en période prénatale au MPH ou au liquide physiologique (saline). Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  S.E.M. des pourcentages du niveau basal de la DA.**

L'analyse statistique réalisée à l'aide du test de Mann Whitney révèle un effet de l'exposition prénatale chez les mâles (a  $p < 0,05$ ) et chez les femelles (b  $p < 0,05$ ).

### C. Etude autoradiographique de différents marqueurs neuronaux dopaminergiques

Dans le mésencéphale, la densité de fixation du [<sup>3</sup>H]-SCH23390 et du [<sup>3</sup>H]-DTBZ n'est pas significativement différente chez les mâles MPH par rapport aux témoins. Par contre, on observe une augmentation de la densité de fixation du [<sup>3</sup>H]-YM-091516-2, significative au niveau de la SN, et qui frôle la limite statistique posée à 0,05 dans l'ATV, chez les rats MPH par rapport aux témoins (Tableau 23).

Au niveau des deux aires de projections des neurones dopaminergique, on observe globalement une augmentation de la densité de fixation des trois radioligands chez les mâles exposés en prénatal au MPH par rapport aux témoins. Cette augmentation n'est cependant statistiquement significative que pour le marquage des récepteurs RD1 au niveau du striatum ( $p < 0.05$ ).

**Tableau 23 : Densité de fixation du [<sup>3</sup>H]-SCH23390 (1), du [<sup>3</sup>H]-YM-091516-2 (2) et du [<sup>3</sup>H]-DTBZ (3) au niveau du mésencéphale** (SN, Substance noire ; ATV, Aire tegmentale ventral) et des aires de projections des voies mésolimbique et nigrostriée (NAc, Noyau accumbens ; Striatum ) chez la progéniture mâle adulte exposée au MPH ou au liquide physiologique (Saline) en période prénatale. (groupe Saline, n=5 ; groupe MPH, n=7 ; comparaison par le test de Mann-Whitney, \* $p < 0,05$ ).

Structures	Animaux	RD1 (1)	RD2 (2)	VMAT2 (3)
		fmol/mg	fmol/mg	fmol/mg
SN	Saline	753 ± 46	97 ± 4	481 ± 55
	MPH	705 ± 16	113 ± 4 + 16%*	517 ± 18
ATV	Saline	-	85 ± 3	539 ± 51
	MPH	-	99 ± 5 + 17% $p=0.06$	608 ± 17
Striatum	Saline	754 ± 9	282 ± 14	1110 ± 67
	MPH	837 ± 35 + 11%*	298 ± 9	1178 ± 21
NAc	Saline	796 ± 25	224 ± 14	947 ± 59
	MPH	840 ± 16	238 ± 7	1010 ± 21

---

# DISCUSSION

---



Les neurotransmetteurs ont un rôle majeur pendant la période de développement cérébral et les altérations de l'homéostasie de ces neurotransmetteurs pendant des phases critiques, peuvent affecter le déroulement de la maturation cérébrale (Lauder 1993 ; Levitt et al. 1997 ; Whitaker-Azmitia et al. 1996). Les substances psychoactives telles que les psychostimulants, les antidépresseurs ou plus globalement les molécules ayant pour cible les systèmes de neurotransmission, administrés à un stade précoce du développement peuvent avoir des conséquences sur le développement du cerveau, mais aussi sur son fonctionnement une fois mature. C'est pourquoi les antidépresseurs ou autres substances pharmacologiques consommées dans un cadre thérapeutique ne sont pas prescrites chez les femmes enceintes. Cependant, dans le cadre de consommations illégales, le risque d'exposition fœtale est important (<http://www.drugabuse.gov/consequences/prenatal/>). Selon le National Institut of Drug Abuse (NIDA), les psychostimulants, comme le MDMA ou le MPH, sont consommés par une population jeune, potentiellement en âge de procréer (Strote et al. 2002). Chez les consommatrices de MDMA, il a été rapporté que plus de 80% des grossesses n'étaient pas planifiées (Ho et al. 2001) et que des risques de malformations congénitales chez la progéniture à la naissance pouvaient être associés à l'exposition prénatale au MDMA (McElhatton et al. 1999 ; Gouzoulis-Mayfrank et Daumann, 2006). Concernant le MPH, bien qu'aucune donnée ne soit à ce jour disponible sur la prévalence de femmes enceintes en consommant, une étude réalisée a posteriori a montré que l'abus de MPH pendant la grossesse entraînait une augmentation du risque de prématurité, des retards de croissance et un état de manque chez la progéniture (Debooy et al. 1993). Les résultats d'études pré-cliniques jouent un rôle important dans la mise en évidence des risques associés à l'exposition prénatale au MDMA et au MPH, et permettent d'orienter les perspectives de recherches réalisées chez l'Homme (Gardner 2000).

La modélisation chez le rat d'une exposition prénatale chez le rat exige la prise en compte à la fois de la période d'administration et de la dose. À ce jour, trois études ont examiné les modes de consommation du MDMA chez les femmes enceintes (Ho et al. 2001 ; McElhatton et al. 1999 ; van Tonningen-van Driel et al. 1999). Un consensus entre ces études est que la consommation de MDMA tend à se limiter presque exclusivement au premier trimestre de grossesse, avec pour la plupart des cas rapportés, une cessation à partir de la 10<sup>ème</sup> semaine. Le premier trimestre de vie embryonnaire chez l'Homme se caractérise notamment par le développement et la différenciation des systèmes monoaminergiques. Chez

le rat, ces systèmes commencent à se développer au 12-13<sup>ème</sup> jour de vie embryonnaire (Bayer et al. 1993). La période d'administration utilisée dans les travaux présentés ici (E13-20) commence au début du bourgeonnement et de la croissance des axones, et se termine approximativement avec l'établissement de connections synaptiques fonctionnelles dans différentes structures cibles telles que le striatum, le noyau accumbens, l'hippocampe et le cortex frontal. Enfin, grâce à l'échelle inter-espèces de Mordenti et Chappell (1989), nous avons administré aux rats des doses de MDMA ou de MPH équivalentes à celles observées dans le cadre de consommations illicites chez l'Homme (Kalant 2001 ; Dupont et al. 2008).

Nous nous sommes focalisés sur les systèmes dopaminergiques chez la progéniture adulte dans nos modèles d'exposition prénatale au MDMA et au MPH pour plusieurs raisons. La première provient des études d'exposition répétées chez l'adulte qui montrent des modifications à long terme des voies dopaminergiques chez l'homme consommateur de MDMA (Semple et al. 1999 ; Reneman et al. 2002). Bien qu'aucune étude clinique n'ait encore évalué les conséquences à long terme d'une consommation répétée de MPH à des doses non thérapeutiques chez l'adulte, les résultats de modèles animaux montrent une atteinte persistante des voies dopaminergiques (Izenwasser et al. 1999 ; Crawford et al. 2007 ; Brandon et al. 2003). Ainsi, il semble que ce système neuronal soit vulnérable à ce type d'expositions. Une deuxième raison justifiant l'intérêt d'étudier les systèmes dopaminergiques provient de leur implication dans les comportements de récompense et dans les processus qui mènent à l'addiction. En effet, le fait que le MDMA et le MPH sont des psychostimulants et induisent tous deux une sensibilisation comportementale (Berman et al. 2008 ; Kollins et al. 2001), peut suggérer que l'exposition répétée à ces psychostimulants au cours du développement induise des modifications cérébrales qui prédisposent l'individu à la dépendance aux drogues (National Institutes of Health, 1998). Ainsi, les résultats de nos modèles animaux peuvent apporter des éléments de réponse à ces questions.

Enfin, le dysfonctionnement des voies dopaminergiques est impliqué chez l'Homme dans un certain nombre de maladies, comme la maladie de Parkinson (DeLong 1990) ou la schizophrénie (Goldstein et Deutch 1992) qui sont des maladies dites respectivement neurodégénératives et neurodéveloppementales. Depuis quelques années, on voit apparaître un nouveau concept qui souligne les origines développementales de la santé et de la maladie (DOHaD, Developmental Origin of Health and Disease) (Heindel 2006). Cette hypothèse repose sur les résultats obtenus dans des modèles animaux qui montrent un lien de cause à



effet entre la vulnérabilité à développer certaines maladies et la survenue de facteurs environnementaux particuliers pendant des périodes très précoces de la vie (in utero et postnatale). Dans le cadre de maladies neurologiques, le plus approfondi des exemples étudiant cette relation concerne la schizophrénie, où les interactions entre les facteurs génétiques et l'environnement au cours du développement précoce, comme les expositions prénatales au plomb, les infections maternelles ou les facteurs nutritionnels, semblent être impliqués dans l'étiologie de cette maladie (Opler et Susser 2005). Dans un autre exemple de DOHaD neurologique, l'exposition périnatale au plomb chez le rat induit des conséquences à long terme sur l'expression de protéines associées à la maladie d'Alzheimer (Basha et al. 2005). Dans ce cadre, nos modèles animaux peuvent permettre d'appréhender certains mécanismes potentiellement impliqués dans l'apparition d'affections neurodéveloppementales ou neurodégénératives.

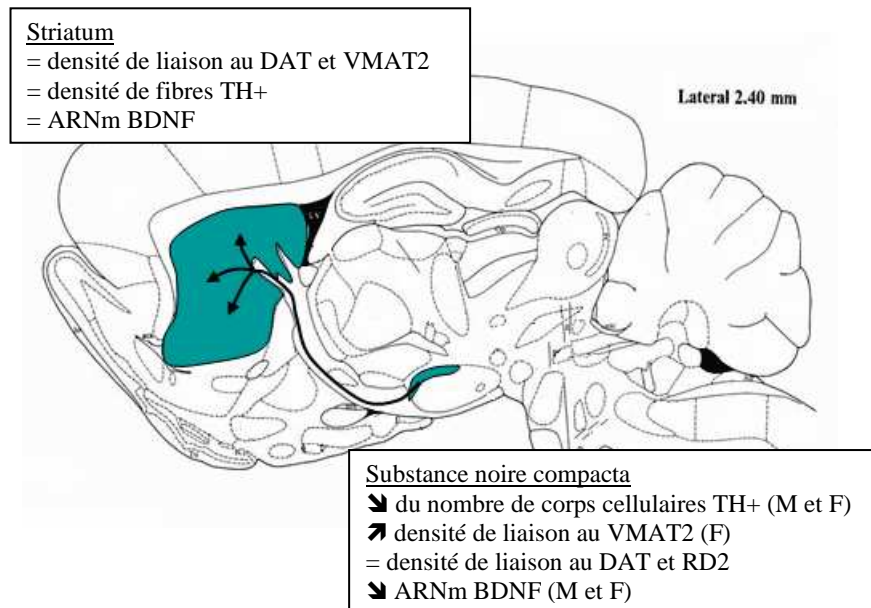
# **I. Exposition prénatale au MDMA**

## ***A. Perturbations neurobiochimiques à long terme des voies dopaminergiques***

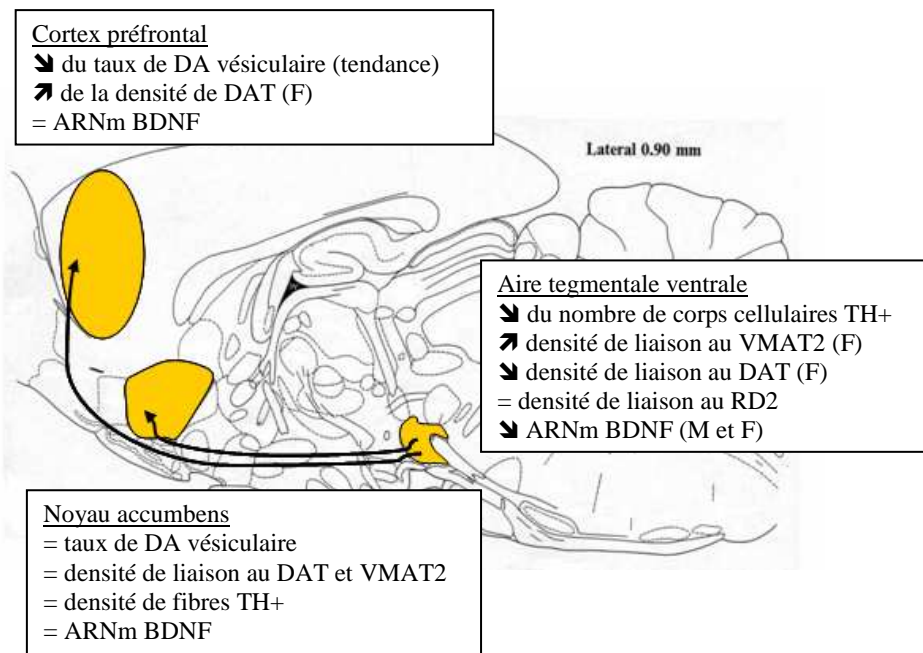
L'influence de l'exposition prénatale au MDMA sur la neurotransmission dopaminergique chez l'adulte a été étudiée via l'évaluation de différents marqueurs neuronaux. Au niveau moléculaire, l'activité du neurotransmetteur est régulée de façon dynamique par différentes macromolécules clés comme les enzymes de synthèse, les protéines canaux responsables de l'excitabilité membranaire, les transporteurs permettant le passage des neurotransmetteurs dans les différents compartiments cellulaires, et les récepteurs pré- et post-synaptiques. Certaines de ces protéines peuvent servir d'outil pour caractériser très spécifiquement un système neuronal. Ainsi, nous nous sommes intéressés à la tyrosine hydroxylase (TH) qui est l'enzyme limitante de la synthèse de la DA, aux transporteurs membranaires et vésiculaires de la DA, qui sont respectivement le DAT et le VMAT2, ainsi qu'aux récepteurs dopaminergiques RD1 et RD2, pour caractériser l'intégrité neurobiochimique des neurones dopaminergiques. Par ailleurs, l'utilisation de la technique de microdialyse a permis une approche plus dynamique de la neurotransmission.

Sont schématisés dans la Figure 35 les résultats neurobiochimiques obtenus dans notre étude au niveau des voies nigrostriée, mésocorticale et mésolimbique de la progéniture adulte exposée en période prénatale au MDMA. Les modifications observées au niveau des corps cellulaires seront discutées dans une première partie, puis les conséquences au niveau des différents sites de projections seront étudiées pour chaque voie.

## A) Voie nigrostriée



## B) Voies mésocorticolimbiques



**Figure 35 : Effets de l'exposition prénatale au MDMA chez la progéniture adulte**, sur les paramètres neurobiochimiques étudiés, au niveau des voies nigro-stiée (A) et mésocorticolimbiques (B), visualisées sur des coupes sagittale de rat. F, femelle ; M, mâle.

## 1. Etude du mésencéphale

Le nombre de corps cellulaires immuoréactifs à la TH (TH+) présents dans le mésencéphale est diminué chez les rats adultes exposés en période prénatale au MDMA. Dans l'aire tegmentale ventrale (ATV) plus précisément, cette diminution est respectivement de 27% et 20% chez les mâles et les femelles. Cet effet de l'exposition prénatale au MDMA est statistiquement significatif quand il est observé globalement pour les deux sexes. En revanche, la réduction est statistiquement significative dans la SNc chez les deux sexes, avec une diminution de 33% observée chez les mâles et de 37% chez les femelles. La diminution du nombre de corps cellulaires TH+ dans l'ATV et la SNc de ces animaux adultes peut être le reflet d'une diminution du nombre de neurones dopaminergiques dans le mésencéphale et/ou d'une hyporégulation de la TH dans les neurones dopaminergiques présents, caractéristique d'une hyporégulation du phénotype dopaminergique (Björklund et Dunnet 2007). Il est possible que ces deux phénomènes coexistent. Par exemple, chez le singe, le nombre de neurones TH+ au niveau de la SN décline avec l'âge. Cette diminution, évaluée à 40-50% chez les animaux âgés, est due, au moins en partie, à une hyporégulation de la TH dans les neurones dopaminergiques encore présents, détectés par marquage de DAT et de neuromélanine (Emborg et al. 1998 ; Chu et al. 2002 ; McCormack et al. 2004). Dans notre étude, l'importance relative de la perte neuronale et de l'hyporégulation de la TH, peut être évaluée grâce aux études de marquage du DAT. En effet, de manière consensuelle il est admis que la densité du DAT représente un bon indice de la densité des neurones dopaminergiques puisqu'il est situé exclusivement sur ceux-ci. La quantification des sites de liaisons du DAT peut représenter un indice de sa densité. Dans notre étude, nous avons réalisé un marquage autoradiographique de ces sites à l'aide du radioligand [<sup>125</sup>I]-PE2I développé dans notre laboratoire (Chalon et al. 1999). Nos résultats ont montré que la densité des sites de fixation du PE2I au niveau de l'ATV et de la SNc n'est pas altérée chez les individus mâles adultes exposés au MDMA en période prénatale. En revanche, elle est diminuée d'environ 20% chez les femelles MDMA dans ces deux structures (avec une significativité statistique atteinte seulement dans l'ATV). Ces résultats suggèrent que l'exposition prénatale au MDMA entraîne une diminution de la densité de DAT au niveau somatodendritique exclusivement chez les femelles adultes. Ainsi, nous pouvons proposer que la diminution du nombre de corps cellulaires TH+ observée chez les rats MDMA soit le

reflet d'une hyporégulation du phénotype dopaminergique, associée chez les femelles à une perte neuronale.

Nous avons mis en évidence d'autres altérations neurobiochimiques au niveau des corps cellulaires des neurones dopaminergiques mésencéphaliques chez les femelles adultes exposées en période prénatale au MDMA : les taux de fixation du [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ sont augmentés significativement de 29% dans l'ATV et de 18% dans la SNc. Le [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ est un radiotracer ayant pour cible le VMAT2 (Scherman et al. 1988). Dans les études de marquage sur coupe, son  $K_d$  pour ce transporteur est de 5 nM (Darchen et al. 1989). Le lien entre ce résultat de fixation et sa relevance physiologique est moins direct à établir que celui du DAT, du fait des rôles et des localisations multiples du VMAT2.

Le VMAT2 permet le passage de la DA cytoplasmique dans les vésicules de stockage (Erickson et al. 1992). Dans celles-ci, la concentration en DA est de l'ordre de 0,1M, alors qu'elle est inférieure au  $\mu\text{M}$  dans le cytoplasme (Elsworth et Roth 1997). Le stockage de la DA dans les vésicules permet de la rendre disponible pour une potentielle libération extracellulaire en réponse à une stimulation. De plus, il assure une protection contre l'environnement cytoplasmique, au pH neutre, où sont présentes les enzymes catabolisantes de la DA et des peroxydes ou radicaux libres responsables de son oxydation. Le VMAT2 semble donc être un biomarqueur de choix pour évaluer l'intégrité des neurones dopaminergiques. Par exemple, chez les individus parkinsoniens, les études post-mortem ont montré une diminution de la densité de la fixation du [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ au niveau de la SNc, corrélée à la perte neuronale (Thibaut et al. 1995). Le VMAT2 peut être utilisé pour marquer la progression de cette maladie (Brooks et al. 2003) et semble à première vue représenter un marqueur de densité neuronale.

Cependant, des études récentes réalisées chez l'homme, l'animal, ou sur culture cellulaire, remettent en question le fait que le VMAT2 soit un marqueur stable de la densité des neurones dopaminergiques. Dans d'autres modèles de neurotoxicité dopaminergique, il a été observé une augmentation de la densité des VMAT2. Par exemple, une augmentation de la densité de fixation du [ $^{11}\text{C}$ ]-DTBZ a été mise en évidence chez des individus anciens consommateurs de méthamphétamine, alors même qu'une neurotoxicité dopaminergique caractérisée par une diminution de la densité de DAT, de l'expression de la TH et du taux de DA, est avérée chez ces individus (Boileau et al. 2008 ; Tong et al. 2008). Une augmentation

de l'expression du VMAT2 atténue la neurotoxicité dopaminergique entraînée par l'exposition répétée à la méthamphétamine (Guillot et al. 2008). Le VMAT2 semble exercer une action neuroprotectrice en diminuant le taux de DA cytoplasmique impliquée dans le stress oxydatif et pouvant entraîner une neurotoxicité (Vergo et al. 2007). Ainsi, plus qu'un marqueur de neurotoxicité ou de perte neuronale, le VMAT2 pourrait représenter un indice de la mise en place d'un processus neuroprotecteur. Dans le cas particulier de la maladie de Parkinson, il semble que la diminution de la densité de VMAT2 soit moins la conséquence de la neurodégénérescence, qu'une des causes de cette pathologie (Chen et al. 2005). En effet, une réduction du stockage vésiculaire de la DA entraîne une neurodégénérescence progressive des neurones nigrostriés (Caudle et al. 2007). Ainsi, l'augmentation de l'expression des VMAT2 observée chez les femelles exposées en période prénatale au MDMA, pourrait être un mécanisme compensateur permettant d'augmenter le transport de la DA cytoplasmique vers les vésicules de stockage et participant à un processus de restauration de la fonction neuronale, et de potentialisation de la survie cellulaire dans des conditions altérées de l'homéostasie de la DA, caractérisées dans notre étude par une diminution de la synthèse de DA mésencéphalique.

Cette réduction de certains marqueurs des neurones dopaminergiques au niveau du mésencéphale observée chez la progéniture femelle MDMA par rapport aux témoins, pourrait être la conséquence d'un déficit de la neurogénèse au moment du développement et/ou d'une augmentation du processus de mort neuronale et/ou d'un trouble de la survie neuronale au stade adulte.

Dans notre étude, aucune altération de la prolifération cellulaire au niveau de la zone subgranulaire du gyrus dentelé et de la zone subventriculaire n'a été observée chez les individus exposés au MDMA, et ce, à un stade de développement précoce (de P3 à P21), comme à un stade adulte (P70). Ces résultats suggèrent que l'exposition prénatale au MDMA n'altère pas cette première étape nécessaire au bon déroulement de la neurogénèse périnatale et adulte. Il a été montré que l'administration aigue de MDMA à des rats adultes n'a pas d'effet délétère sur la prolifération cellulaire, mais diminue la survie des neurones nouvellement synthétisés (Hernandez-Rabaza et al. 2006). Dans notre modèle, nous ne pouvons pas exclure que la survie neuronale ne soit pas altérée.

Une étude récente a montré une augmentation de plus de 20% du nombre de corps cellulaire TH+ dans la SNc, sans modification dans l'ATV, chez de jeunes rats mâles (P35) exposés de E14 à E20 au MDMA (Lipton et al. 2008). Ces résultats associés aux nôtres suggèrent donc que la diminution du nombre de neurones dopaminergiques observée chez l'adulte serait consécutive à un effet survenant en période post-adolescence, pouvant impliquer une altération de la survie neuronale, plutôt qu'un déficit de neurogénèse.

L'hypothèse que l'exposition prénatale au MDMA entraîne des troubles de la survie des neurones dopaminergiques mésencéphaliques au stade adulte, est étayée par les résultats d'étude du BDNF. En effet, nous avons mis en évidence une diminution de plus de 80% du taux d'ARNm de BDNF au niveau du mésencéphale de la progéniture mâle et femelle adulte exposée au MDMA. Le BDNF est la neurotrophine la plus retrouvée dans le SNC. Chez l'adulte, il est très impliqué dans le maintien et la survie des neurones dopaminergiques. Les études de cultures cellulaires ont montré que le BDNF a un rôle facilitateur dans la survie et la maturation des neurones dopaminergiques mésencéphaliques (Blochl et Sirrenberg 1996 ; Hyman et al. 1991, 1994). Des études menées sur la maladie de Parkinson ont montré que l'expression du BDNF est diminuée dans la SNc des patients atteints de cette maladie (Chauhan et al. 2001 ; Howells et al. 2000 ; Mogi et al. 1999 ; Parain et al. 1999). Chez le singe et le rat, des études de pharmacologie ont mis en évidence que l'administration de BDNF exogène à des animaux adultes les protégeait contre les atteintes dopaminergiques induites par des agents toxiques comme la 6-OHDA ou le MPP+ (Tsukahara et al. 1995 ; Volpe et al. 1998 ; Lindsay et al. 1993 ; Altar et al. 1994 ; Spina et al. 1992). Il semble bien établi que le BDNF est capable de promouvoir, via l'activation du récepteur TrkB, la survie des neurones dopaminergiques dans le mésencéphale (Krieglstein et al. 1996 ; Baquet et al. 2005). Ainsi, la diminution des ARNm du BDNF observée dans le mésencéphale d'animaux exposés au MDMA pourrait être liée à la perte du phénotype dopaminergique observée chez ces mêmes individus. Mais le processus d'apoptose activé par la privation de ce facteur neurotrophique n'est pas connu (Yu et al. 2008).

## **2. Voie nigrostriée**

Au niveau du striatum, les densités de fixation des radioligands au DAT et au VMAT2, ainsi que la densité des fibres TH+, sont identiques chez les rats adultes exposés en période prénatale au MDMA à celles observées chez les rats témoins, que ce soit chez les mâles et chez les femelles. En accord avec ces résultats, l'expression du BDNF n'est pas modifiée dans le striatum. Nos résultats suggèrent donc que l'exposition prénatale au MDMA n'entraîne pas d'altérations neurobiochimiques des fibres de projections des neurones de la voie nigrostriée. Cependant, dans une étude antérieure réalisée dans notre laboratoire, il avait été montré une diminution de la DA libérée sous stimulation pharmacologique à la tyramine dans le striatum chez la progéniture mâle adulte exposée au MDMA en période prénatale (Galineau et al. 2005). En accord avec nos résultats, cette étude n'avait pas révélé de modification de la densité du DAT. La microdialyse intracérébrale permet une approche dynamique de la neurotransmission. Malgré l'absence de modification de la densité des différents acteurs de la neurotransmission dopaminergique, la réduction du taux de DA libérée sous stimulation pharmacologique peut être le reflet de trouble fonctionnel de cette voie de neurotransmission.

## **3. Voie mésolimbique**

Dans le NAc, l'intensité du marquage TH+ et la densité de fixation du [<sup>125</sup>I]-PE2I et du [<sup>3</sup>H]-DTBZ sont trouvées identiques chez tous nos groupes expérimentaux. De plus, aucune modification de l'expression du BDNF dans cette structure n'est observée chez les rats MDMA. Ainsi, l'exposition prénatale au MDMA n'entraîne pas de modification ni de la densité des transporteurs dopaminergiques membranaires et vésiculaires, ni de celle des fibres de projections dopaminergiques, ni de leur facteur neurotrophique. De plus, les taux de DA vésiculaire libérée sous stimulation pharmacologique ne sont pas modifiés. Tous ces résultats suggèrent donc que l'altération des neurones dopaminergiques observée dans l'ATV n'est pas liée à une modification des fibres de projection de ces neurones dans le NAc.



#### 4. Voie mésocorticale

Au niveau du CPF, alors que la densité de fixation du [ $^{125}$ I]-PE2I au DAT n'est pas altérée chez les mâles MDMA, elle est augmentée de plus de 30% par rapport aux témoins chez les femelles. Comme il a été vu précédemment, le DAT est le marqueur le plus spécifique des neurones dopaminergiques. Ainsi, l'exposition prénatale au MDMA semble altérer la densité de fibres dopaminergiques corticales chez les femelles adultes.

Aucun effet de l'exposition prénatale, ni du sexe n'est observé sur la densité de fixation du [ $^3$ H]-DTBZ au niveau cortical de la progéniture adulte. Ce résultat suggère que la densité des VMAT2 n'est pas altérée à la suite d'exposition prénatale au MDMA.

Les résultats de microdialyse réalisées au niveau du CPF de rats adultes vigiles ont révélées que l'exposition prénatale au MDMA tend à diminuer le taux de DA libérée sous stimulation à la tyramine par rapport aux individus témoins, et ce, de façon plus importante chez les femelles. La tyramine est un substrat très affiné pour le DAT et le VMAT2 (Rothman et al. 2002 ; Partilla et al. 2006). Elle entraîne la libération massive de la DA vésiculaire vers le milieu extraneuronal (Fairbrother et al. 1990). Cette tendance observée suggère que l'exposition prénatale au MDMA entraîne une diminution du taux de DA stockée dans les vésicules des terminaisons synaptiques des neurones dopaminergiques mésocorticaux. Cependant, il est important de noter que la DA au niveau cortical peut être libérée par les terminaisons synaptiques des neurones noradrénergiques (Devoto et al. 2001). La tyramine, agissant sur les VMAT2, transporteurs communs de toutes les monoamines, et présentant une affinité pour le NET (Vincent et al. 2004), entraîne le relargage massif de la noradrénaline mais aussi de la DA contenue dans ces neurones. Il ne pourrait donc pas être exclu que la diminution de la libération de DA observée dans le CPF sous stimulation à la tyramine soit en partie la résultante d'une diminution de la DA vésiculaire stockée dans les neurones noradrénergiques.

La probable diminution du taux de DA vésiculaire observée chez les animaux MDMA, pourrait être la conséquence de plusieurs altérations neurobiochimiques et fonctionnelles au niveau des terminaisons corticales : 1) une diminution de la densité des fibres de projections des neurones dopaminergiques, 2) une diminution de la synthèse de DA, soit de l'activité de la TH au niveau cortical, 3) une réduction de la densité des VMAT2

présents dans les terminaisons synaptiques des neurones dopaminergiques et 4) une altération du transport vésiculaire. Les résultats expérimentaux issus des études autoradiographiques ne confirment pas les hypothèses d'une diminution de la densité des fibres de projections des neurones dopaminergiques dans le CPF et ni celle d'une diminution de la densité des VMAT2 présents dans les terminaisons synaptiques des neurones monoaminergiques. L'hypothèse d'une altération du stockage de la DA sera développer dans la partie « perspectives ».

## **C. Conséquences fonctionnelles**

Dans ce travail de thèse a été mis en évidence que l'exposition prénatale au MDMA entraîne des perturbations neurobiochimiques des systèmes dopaminergiques chez le rat adulte. La DA est largement reconnue pour avoir un rôle critique dans la neurobiologie de la récompense (Wise et Bozarth 1987 ; Robinson et Berridge 1993), de la locomotion (Geyer et al. 1972) et des fonctions cognitives et exécutives (Nieoullon 2002). Le lien entre les modifications neurobiochimiques mises en évidence dans notre étude et les possibles conséquences sur ces comportements est discuté dans ce chapitre.

### **1. Comportement de récompense**

Parmi les systèmes dopaminergiques, les voies mésocorticolimbiques sont très impliquées dans les comportements de récompense (Hyman et al. 2006). La DA accumbale semble être l'activateur de ces comportements (Wise 1984; Koob et al. 1992 ; Joseph et al. 2003 ; Di Chiara 2002 ; Robbins et Everitt 1996). Le NAc est considéré comme étant le site primaire de l'action des psychostimulants et de la majorité des molécules addictives (Bradberry et al. 2000 ; Brazell et al. 1990 ; Pettit et Justice 1989 ; Weiss et al. 1992 ; Kalivas et Duffy 1990). Ainsi, la mesure des effets appétitifs ou récompensant de molécules addictives peut refléter l'état fonctionnel de cette voie. Parmi les divers protocoles expérimentaux réalisés sur les animaux de laboratoire, les procédures de préférence conditionnée de lieu et d'auto-administration sont les plus utilisées (Bardo et Bevins 2000). La cocaïne est la molécule de référence utilisée dans ces tests. Elle est connue pour stimuler

la libération de DA accumbale et ses effets appétitifs et renforçants sont bien définis (Kalivas et al. 1992; Segal et Kuczenski 1992).

Dans le modèle d'exposition prénatale au MDMA, les rats mâles et femelles adultes ont été testés dans le protocole de préférence de lieu conditionnée à la cocaïne. Son principe repose sur le comportement naturel d'approche vis-à-vis d'un environnement auquel l'animal aura associé un état interne agréable. Dans une première phase, le rat est soumis à un conditionnement qui lui permet d'associer les effets de la cocaïne à un environnement particulier. Dans une seconde étape, l'animal ne reçoit pas de cocaïne et a libre accès à tous les compartiments. C'est dans cette phase dite test qu'est évaluée la préférence de lieu. Nos résultats ont montré que l'effet appétitif ou récompensant de la cocaïne n'est pas altéré par l'exposition prénatale au MDMA, puisque tous nos groupes d'animaux ont montré de façon similaire une préférence de lieu dans le compartiment associé à la cocaïne. Aucun trouble du comportement de récompense n'a donc pu être mis en évidence dans ce test.

Ces résultats comportementaux semblent confirmer les résultats de nos études neurobiochimiques, qui montrent une absence d'altération des fibres de projections dopaminergiques dans le NAc chez ces mêmes animaux. Cependant, nous avons observé dans le CPF des modifications neurobiochimiques des neurones dopaminergiques. Ces derniers sont impliqués dans certains comportements de la récompense, comme la motivation, la sensibilisation et l'addiction (Beyer et Steketee 2001; Gariano et Groves 1988; Taber et al. 1995; Tzschentke 2000), mais leur lésion n'induit pas de trouble de la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne (Hemby et al. 1992). Ainsi, les résultats de la microdialyse in vivo dans le NAc et du test comportemental suggèrent l'absence de trouble de comportement de la récompense, même en présence de troubles neurobiochimiques de la DA corticale, chez les rats adultes exposés au MDMA en prénatal.

De plus et comme pour conforter nos résultats, vient d'être publiée une étude montrant que l'effet renforçant de la cocaïne dans un protocole d'auto-administration n'est pas altéré chez des mâles adultes exposés de E14 à E20 au MDMA (Thompson et al. 2009). Dans cette étude, la dose journalière administrée de MDMA (15 mg/kg, deux fois par jour) est supérieure à la dose utilisée dans notre protocole (10 mg/kg/jour). Ainsi, il semble que l'exposition prénatale au MDMA n'entraîne pas d'altération du comportement de récompense chez l'adulte.

## **2. Comportement de locomotion**

Les neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée contrôlent le comportement de locomotion et l'initiation motrice. Il a été montré dans une étude récente que l'exposition prénatale au MDMA n'avait de conséquence détectable sur l'activité de locomotion ni dans des conditions basales, ni sous stimulation à l'amphétamine (Thompson et al. 2009). Cela suggère que l'atteinte neurobiochimique des neurones dopaminergiques de la voie nigrostriée de rats exposés au MDMA en prénatal, caractérisée par une diminution du nombre de corps cellulaires TH+ et par des troubles de la densité de leurs transporteurs dans la SNc, ainsi que par une diminution des taux de DA vésiculaire dans le striatum (Galineau et al. 2005), n'a pas ou que de très modestes conséquences fonctionnelles.

De plus, sur la base de résultats d'études comportementales qui ont montré que l'administration locale de BDNF pouvait augmenter les fonctions dopaminergiques de la voie nigrostriée et augmenter l'activité de locomotion (Martin-Iverson et al. 1994 ; Altar et al. 1992 ; Pierce et al. 1999), l'absence de modification de l'expression du BDNF dans le striatum de nos rats MDMA est en accord avec l'absence de troubles de l'activité motrice.

## **3. Fonctions exécutives**

A l'inverse des systèmes dopaminergiques mésolimbique et nigrostriée, le système mésocortical représente un système de modulation plutôt qu'un réel effecteur de réponses comportementales (Seamans et Yang 2004). Le CPF est impliqué dans un très grand nombre de fonctions cognitives et exécutives chez le rat, comme la mémoire de travail, les processus attentionnels, le comportement dirigé vers un but, la planification, ou encore la prise de décision (Briand et al. 2007), mais aussi dans les processus de récompense (Tzschentke 2000). L'implication de la DA mésocorticale dans ces différentes fonctions est difficile à définir précisément du fait des nombreuses interactions de la DA avec d'autres systèmes de neurotransmission présents dans le cortex et du fait de l'importance de cette structure dans l'innervation glutamatergique des aires sous corticales.

Comme nous l'avons montré, le système mésocortical est altéré par l'exposition prénatale au MDMA, tant au niveau des corps cellulaires (réduction du nombre de neurones

TH+ dans l'ATV) que des projections axonales (tendance à la diminution du taux de DA vésiculaire chez les mâles et femelles et augmentation de la densité du DAT chez les femelles). Dans notre étude, la relevance comportementale de ces atteintes neuronales n'a pas été évaluée directement. Cependant, trois études ont mis en évidence la présence de troubles comportementaux chez des rats mâles à la suite d'exposition en période prénatale au MDMA, qui pourraient s'expliquer par des troubles de la fonction dopaminergique de la voie mésocorticale. La première étude a montré que l'exposition au MDMA de E14 à E20 entraîne chez le jeune rat une altération de l'habituation à un nouvel environnement, caractérisée par une activité d'exploration permanente (Koprach et al. 2003). Ce comportement reflète un trouble de l'adaptation à une situation nouvelle. Une seconde étude a démontré une diminution de la préférence au saccharose chez des rats mâles adultes (Galineau et al. 2005). Différentes hypothèses avaient alors été proposées pour expliquer ce trouble comportemental : (1) une perturbation des comportements dirigés vers un but, (2) une altération de motivation pour avoir une récompense (comme le sucre) ou (3) une anhédonie (baisse du plaisir qui devrait survenir suite à une récompense). Les deux dernières hypothèses suggéraient la présence de troubles des processus de récompense. A posteriori, grâce aux résultats obtenus dans notre étude et par l'équipe de Lipton (Thompson et al. 2009), il semble qu'elles ne représentent pas une interprétation adéquate, puisqu'il n'a pas été mis en évidence de troubles fonctionnels du système mésolimbique impliqué dans les processus de récompense chez ces rats. Le comportement dirigé vers un but est quant à lui dépendant de la DA corticale (Genovesio et al. 2006 ; Hitchcott et al. 2007). Ainsi, la diminution de la préférence au saccharose pourrait être le reflet d'une perturbation du comportement dirigé vers un but. Enfin, une dernière étude a montré que des rats mâles exposés en période prénatale au MDMA présentent une augmentation de la persévérance dans la réalisation d'une tâche de mémoire procédurale (Thompson et al. 2009). Là encore, l'altération du processus de persévérance est associée chez l'Homme comme chez l'animal à des dysfonctionnements des neurones du CPF (Baxter et al. 2008 ; Sebastian et al. 2006 ; Nagahama et al. 2005), et particulièrement des neurones dopaminergiques (Collins et al. 1998 ; Chudasama et Robbins 2004). Ainsi, les modifications neurobiochimiques de la voie mésocorticale observées dans notre étude pourraient avoir des conséquences fonctionnelles sur un certains nombres de comportements associés à des fonctions exécutives.

#### **4. Comportement d'anxiété**

Il a été mis en évidence que l'exposition prénatale au MDMA induit chez la progéniture adulte une diminution du comportement d'anxiété (Thompson et al. 2009). Il est très clairement établi aujourd'hui que les troubles du comportement d'anxiété et la dépression sont associés à des troubles de la fonction du BDNF dans l'hippocampe (Castrén et al. 2007). Ce lien direct a pu être posé grâce aux résultats de plusieurs études :

- le stress et l'état déprimé diminuent la synthèse de BDNF dans l'hippocampe (Duman et Monteggia 2006).
- la majorité des antidépresseurs induit l'augmentation de l'expression du BDNF (Chen et al. 2001)
- une augmentation de BDNF chez le rongeur entraîne des effets anxiolytiques, mimant les effets d'antidépresseurs (Koponen et al. 2005) et une résistance au stress (Schulte-Herbrüggen et al. 2006).

Dans notre étude, la progéniture adulte exposée en période prénatale au MDMA présente des taux d'ARNm de BDNF dans l'hippocampe supérieurs à celui des témoins. Ainsi, la diminution du comportement d'anxiété observée par l'équipe de Lipton pourrait être liée à l'augmentation de l'expression de BDNF dans l'hippocampe.

#### ***D. Mécanismes potentiels des effets du MDMA***

Le mécanisme par lequel l'exposition prénatale au MDMA entraîne des troubles à long terme sur la neurotransmission dopaminergique reste peu clair. Il est possible que ces troubles neurodéveloppementaux soient les conséquences de synergie entre plusieurs effets directs ou indirects du MDMA sur le fœtus.

## **1. Action directe sur le cerveau en développement**

Il a été montré que le MDMA, administré en dose unique à une rate gestante à G14, est retrouvé dans le compartiment fœtal, les concentrations de MDMA au niveau du cerveau du fœtus étant similaires à celles retrouvées dans le cerveau de la mère (Campbell et al. 2006). Dans notre étude, le MDMA est administré aux femelles gestantes de G13 à G20. Donc, le développement cérébral du fœtus pendant cette période peut être affecté directement par la molécule, très probablement via son effet sur le SERT qui est détecté à partir du 12<sup>ème</sup> jour de vie embryonnaire chez le rat (Zhou et al. 2000).

## **2. Action indirecte via la mère**

L'exposition prénatale au MDMA peut avoir une action indirecte sur le fœtus via les effets du MDMA induits chez la mère au cours de la gestation. En effet, l'administration de MDMA à des rats adultes produit des effets vasoconstricteurs (Fitzgerald et Reid, 1994), anorexigènes (Kobeissy et al. 2008) et anxiogènes (Gurtman et al. 2002). Ces effets peuvent indirectement être impliqués dans les troubles du développement fœtal : il a été suggéré que l'hypoxie ischémie fœtale, l'anorexie et le stress maternelle pouvaient entraîner des modifications neurodéveloppementales chez la progéniture (Derrick et al. 2004 ; Patin et al. 2004).

Dans nos protocoles expérimentaux, nous avons montré que l'administration quotidienne de MDMA à des rates du 13<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> jour de gestation, induit durant cette période une prise de poids significativement plus faible que celle observée chez les femelles témoins. Cette diminution, atteignant presque 30% dans les deux séries expérimentales, a déjà été observée dans d'autres études d'exposition au MDMA pendant la période de gestation (St Omer et al. 1991 ; Colado et al. 1997 ; Koprach et al. 2003 ; Galineau et al. 2005). Associée à cette baisse de prise de poids, les femelles traitées au MDMA dans une salle dont la température ambiante est comprise entre 22 et 24°C, présentent une réponse hyperthermique dans l'heure qui suit l'injection de MDMA. Cette augmentation de la température est retrouvée tout le long de la période d'exposition. Chez le rat, il est connu que le MDMA entraîne des modifications de la température corporelle, dépendantes de la température extérieure (Malberg et Seider 1998 ; O'Shea et al. 2006). Plus spécifiquement, le

MDMA administré dans un environnement froid ( $T^{\circ}\text{C} < 17^{\circ}\text{C}$ ) entraîne une hypothermie, alors que ce même traitement réalisé dans une salle plus chauffée ( $T^{\circ}\text{C} > 22^{\circ}\text{C}$ ) induit une hyperthermie (Dafters 1994 ; Dafters et Lynch 1998 ; Broening et al. 1995). La température ambiante à laquelle se trouve le point de commutation dans la réponse thermique du rat après administration de MDMA semble être très proche de la température moyenne d'hébergement ( $20^{\circ}\text{C}$ ). La réponse hyperthermique semble être dépendante du nombre d'animaux par cage (McNamara et al. 2006), et indépendante de l'augmentation de l'activité de locomotion induite par le MDMA (Dafters 1994 ; Marston et al. 1999 ; Rusyniak et al. 2008). Dans les mêmes conditions de températures que les nôtres, une réponse hyperthermique avait déjà été retrouvée chez des rats adultes suite à l'administration de MDMA (Dafters 1994 ; Dafters et Lynch 1998 ; Broening et al. 1995). Ainsi, nous ne pouvons pas exclure que les altérations cérébrales observées chez la progéniture adulte issue de mères gestantes exposées au MDMA, soient liées indirectement à cette hyperthermie transitoire.

### ***E. Vulnérabilité sexe dépendante***

Certains résultats obtenus au cours de ce travail de thèse suggèrent que la progéniture femelle semble plus sensible aux effets à long terme d'une exposition prénatale au MDMA. La plus grande vulnérabilité observée chez les femelles s'exprime par une altération neurobiochimique des systèmes dopaminergiques supérieure à celle observée chez les mâles. Elle est caractérisée dans notre étude par :

- des altérations significatives de la densité du DAT et du VMAT2 au niveau de l'ATV et de la SNC, non retrouvées chez les mâles,
- une diminution du taux de DA vésiculaire corticale plus importante,
- une augmentation de la densité du DAT dans le CPF, non observée chez les mâles.

La majorité des études s'intéressant aux effets du MDMA administré au cours de périodes précoces n'a utilisé que les mâles. Mais les quelques études ayant inclus la progéniture mâle et femelle, ont montré que l'exposition au MDMA pendant des périodes précoces du développement (pré- et postnatales), semble produire des effets équivalents chez les deux sexes. Le poids corporel (Koprich et al. 2003; Meyer et Ali 2002), l'expression de la



TH, du BDNF et de 5-HT au niveau de différentes structures cérébrales (Koprich et al. 2003; Broening et al. 2001) et la capacités de discrimination olfactive (St Omer et al. 1991), sont des paramètres qui sont modifiés de façon similaire chez la progéniture mâle et femelle. Il a cependant été relevé des différences entre les sexes sur les performances mnésiques dans des études d'exposition postnatale au MDMA (Broening et al. 2001 ; Williams et al. 2003). Ces différences sont très ponctuelles et semblent surtout être la conséquence de l'usage de stratégie différente en fonction des sexes, plus qu'une interaction avec l'effet de la drogue.

Comme il a été succinctement rapporté dans la partie introductive de cette thèse, les études cliniques et précliniques suggèrent qu'au stade adulte les femelles sont plus sensibles aux effets aigus et subaigus du MDMA, même si l'impact du sexe sur les effets à long terme est moins clair (Allott and Redman 2007). La vulnérabilité dépendante du sexe peut être la conséquence de différents mécanismes. Elle pourrait s'expliquer par une distribution différente de la molécule dans le corps du fait de critères pharmacocinétiques variables, comme la proportion de masse grasse (Gandhi et al. 2004 ; Harris et al. 1995). De plus, il a été montré que l'intensité des réponses comportementales induites par l'administration de MDMA est variable en fonction de la période du cycle oestral du rat femelle (Bubenikova et al. 2005). L'œstrogène potentialiserait les réponses comportementales au MDMA (Zhou et al. 2003) et participerait à rendre la femelle plus vulnérable à cette molécule. Enfin, il a été souligné un dimorphisme sexuel dans l'expression et le fonctionnement des systèmes de neurotransmission monoaminergique en condition physiologique. Chez les rats adultes sains, les femelles présentent une plus grande expression globale de protéines impliquées dans le système sérotoninergique central, telles que la 5-HT, la 5-HIAA, la tryptophane hydroxylase, ainsi qu'un rapport 5-HIAA/5-HT plus élevé que chez les mâles (Carlsson et Carlsson 1988 ; Carlsson et al. 1985 ; Dominguez et al. 2003). Ces observations tendent à démontrer que les neurones sérotoninergiques ont une capacité de stockage, une activité enzymatique et un taux de synthèse de 5-HT plus importants chez les femelles que chez les mâles. Suivant le même profil, il existerait aussi un dimorphisme sexuel des systèmes dopaminergiques. Différentes études ont montré que le taux de DA striatale (Castner et al. 1993), la densité en DAT (Rivest et al. 1995) ainsi que le processus de libération et de recapture de la DA (Munro et al. 2006) étaient plus importants chez les rats femelles que chez les mâles. Il est donc envisageable que ce dimorphisme sexuel des systèmes monoaminergiques ait un rôle dans les différences de réponses physiologiques et comportementales au MDMA à caractère sexe spécifiques.

En ce qui concerne les mécanismes responsables du dimorphisme sexuel dans les effets neurobiochimiques à long terme d'une exposition prénatale, il est possible qu'il existe un dimorphisme sexuel des systèmes monoaminergiques au cours du développement, comme il vient d'être décrit chez l'adulte.

L'aromatase est une enzyme présente à l'intérieur des neurones, qui permet la synthèse d'oestrogène par aromatisation des androgènes circulants (Naftolin et al. 1975). A E15, il a été reporté que l'activité de cette enzyme est plus importante chez les mâles par rapport aux femelles (Hutchison 1997). L'oestrogène est impliqué dans la synaptogénèse (Gould et al. 1990), la sécrétion de neurotrophine (Singh et al. 1995) et la différenciation neuronale (Blanco et al. 1990). Des différences entre les sexes ont déjà été rapportées concernant par exemple la vitesse de croissance neuronale à E14 et E15 (Knoll et al. 2007 ; Henderson et al. 1999). Même si aucune donnée n'est à ce jour disponible sur la présence de différences dans le développement des systèmes monoaminergiques entre les deux sexes, il semble possible qu'il existe un dimorphisme sexuel dans le développement de ces systèmes au cours de la période embryonnaire. Le MDMA, via son action directe sur les systèmes monoaminergiques (Baumann et al. 2007) entraînerait alors des effets aigus différents chez le fœtus mâle et femelle, qui pourraient être à l'origine des différences de vulnérabilité observées entre les sexes aux effets à long terme du MDMA.

Il peut être suggéré aussi que cette plus grande vulnérabilité des femelles aux effets à long terme d'une exposition au MDMA, soit la conséquence non pas de l'action directe du MDMA sur le cerveau fœtal, mais de l'effet du MDMA sur la mère. Comme, nous l'avons déjà mentionné précédemment, le MDMA induit chez le rat adulte des effets anxiogènes (Gurtman et al. 2002). Il a été mis en évidence que le stress maternel, ou l'exposition prénatale au stress, entraîne des modifications neurobiochimiques à long terme des neurones dopaminergiques différentes en fonction du sexe (Reznikov et al. 2001).

## II. Exposition prénatale au MPH

Le modèle d'exposition prénatale au MPH a été dans ce travail de thèse moins approfondi que le modèle d'exposition au MDMA. Par exemple, seuls les résultats de la progéniture mâle n'ont été décrits dans les études autoradiographies. La réalisation de ces études chez les femelles est en cours. Cependant, ces premiers résultats, résumés dans la Figure 36, sont très encourageants et discutés dans cette partie.

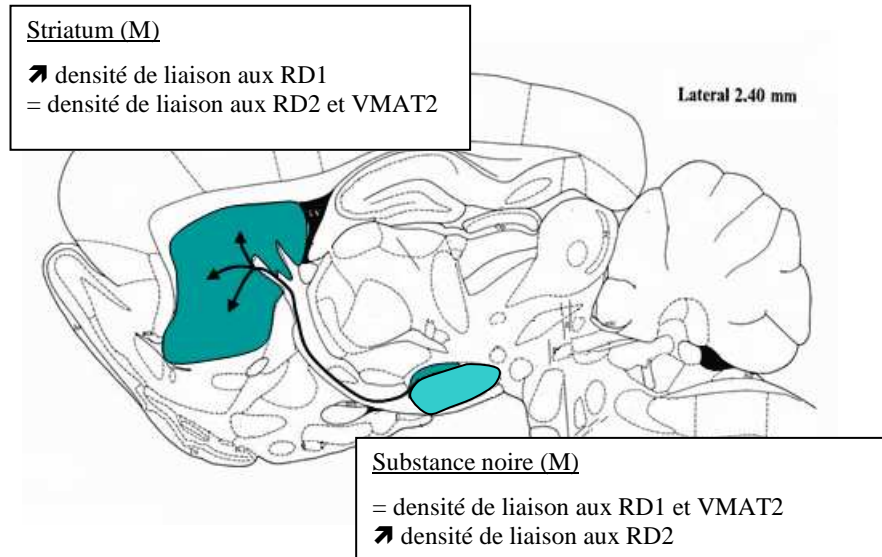
### ***A. Etude du mésencéphale***

Une augmentation de 16% et 17% de la densité de fixation du [ $^3\text{H}$ ]-YM-09151-2 a été observée respectivement dans la SNc et l'ATV chez les rats mâles adultes MPH comparés aux rats témoins. Ces résultats suggèrent que l'exposition prénatale au MPH induit une augmentation de la densité des récepteurs RD2 dans les structures dopaminergiques du mésencéphale. Ces récepteurs sont situés dans ces structures très majoritairement au niveau des membranes somatodendritiques des neurones dopaminergiques (Bouthenet et al. 1987 ; Chen et al. 1991 ; Sokoloff et al. 1992). Comme il a déjà été mentionné précédemment, le pool extracellulaire de DA peut contrôler l'activité des neurones dopaminergiques via ces autorécepteurs RD2. L'activation de ceux-ci induit l'augmentation de la conductance potassique et l'hyperpolarisation de la membrane plasmique des neurones dopaminergiques, induisant une inhibition de la libération de la DA tant au niveau somatodendritique qu'axonal. La perfusion dans la VTA d'antagonistes des RD2 augmente le taux de DA extracellulaire dans le NAc (Westerink et al. 1996 ; Kohl et al. 1998), alors que la perfusion d'agonistes de RD2 induit une diminution de la DA extraneuronale dans le NAc (Kohl et al. 1998). Il est donc possible que l'augmentation de la densité de ces récepteurs chez les rats adultes exposés au MPH en période prénatale ait des conséquences fonctionnelles sur la neurotransmission dopaminergique au niveau des terminaisons axonales.

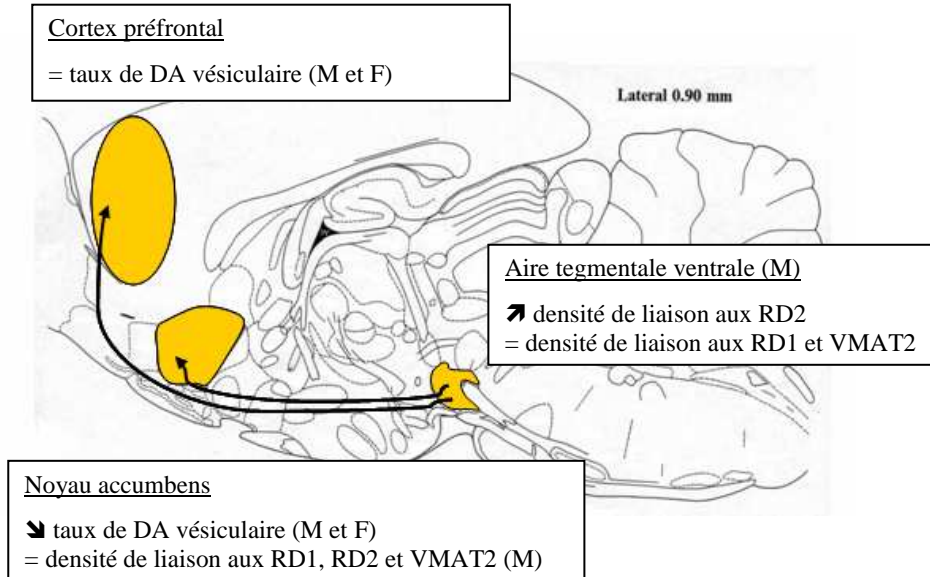
La densité de fixation de [ $^3\text{H}$ ]-DTBZ n'est modifiée ni dans la SNc, ni dans l'ATV, suggérant que la densité de VMAT2 n'est pas altérée dans ces deux structures. Il en est de même pour la densité des récepteurs RD1 qui sont situés dans la SN réticulée sur les neurones GABAergiques provenant du striatum et coexprimant la substance P et les neurones glutamatergiques (Gerfen et al. 1990 ; Lu et al. 1997 ; Altar et Hauser 1987). Ces deux

résultats ne suggèrent donc pas de déficit du transport de la DA dans les vésicules de stockage, ni de la signalisation postsynaptique dopaminergique.

#### A) Voie nigro-striée



#### B) Voies mésocorticolimbiques



**Figure 36 : Effets de l'exposition prénatale au MPH chez la progéniture adulte, sur les paramètres neurobiochimiques observés dans notre étude au niveau des voies nigro-striée (A) et mésocorticolimbiques (B), visualisées sur des coupes sagittales de rat. F, femelle ; M, mâle.**

## ***B. Voie nigrostriée***

Au niveau du striatum de la progéniture mâle adulte exposée en prénatal au MPH, aucune modification de la densité de fixations des radioligands au RD2 et VMAT2 n'est retrouvée par rapport aux animaux témoins. En revanche, la densité des récepteurs RD1 semble augmentée, puisque le taux de fixation du [<sup>3</sup>H]-SCH23390 est augmenté dans le striatum chez les animaux MPH. Dans cette structure, il existe deux grands groupes de neurones striataux exprimant les récepteurs dopaminergiques qui se distinguent par leurs sites de projections axonales et par la synthèse de neuropeptides (Gerfen 1992). La première population se projette essentiellement vers la SN réticulée (SNr) et exprime la substance P (SP) et la dynorphine (Dyn) et la seconde se projette au niveau des parties les plus dorsales du striatum et contient des enképhalines. Les RD1 sont exprimés très préférentiellement sur les neurones qui se projettent dans la SNr, et leur activation a un effet stimulant sur l'expression de la SP et de la Dyn. Les RD2 quant à eux, sont retrouvées plus spécifiquement sur les autres neurones et inhibent l'expression de la proenképhaline A (Gerfen 1992 ; Le Moine et al. 1990, 1991). L'augmentation de la densité des RD1 dans le striatum de rats mâles exposés en prénatal au MPH pourrait être le reflet d'une augmentation de la densité de neurones striataux se projetant dans la SNr ou d'une augmentation de la densité des RD1 par neurone striatal. Dans les deux cas, il est possible que cette augmentation soit le reflet d'un mécanisme de compensation d'un trouble de la neurotransmission dopaminergique, liée à une altération du processus d'autoinhibition, via les RD2 somatodendritiques.

## ***C. Voie mésocorticale***

Au niveau du CPF, aucune modification du taux de DA extracellulaire libérée sous stimulation pharmacologique n'a été observée chez la progéniture mâle et femelle de mère gestantes exposées au MPH. Ces résultats peuvent suggérer que l'exposition prénatale au MPH n'altère pas la voie mésocorticale dopaminergique à long terme chez le rat. Mais il reste indispensable de confronter cette hypothèse en réalisant des études complémentaires de caractérisation de la neurotransmission dopaminergique corticale, par marquages autoradiographiques par exemple des différents biomarqueurs, comme il a été fait dans le modèle d'exposition au MDMA.

## ***D. Voie mésolimbique***

Dans notre étude grâce aux techniques de microdialyse intracérébrale, nous avons mis en évidence une diminution de la DA extracellulaire libérée sous stimulation à la tyramine au niveau du NAc des rats mâles et femelles exposés en période prénatale au MPH. Comme il a été vu dans la partie précédente sur le MDMA, la diminution du taux de DA vésiculaire pourrait être la conséquence d'une ou plusieurs altérations neurobiochimiques et fonctionnelles des terminaisons axonales accumbales : 1) une diminution de la densité des fibres de projections des neurones dopaminergiques, 2) une diminution de la synthèse de DA, soit de l'activité de la TH au niveau cortical, 3) une réduction de la densité des VMAT2 présents dans les terminaisons synaptiques des neurones dopaminergiques et 4) une altération fonctionnelle des capacités de stockage de la DA dans le NAc.

Bien que dans notre étude, aucune modification ne soit observée dans la fixation des radioligands aux RD1, RD2 et VMAT2, des études antérieures réalisées dans notre laboratoire avaient mis en évidence une augmentation de la densité de fixation du [<sup>125</sup>I]-PE2I sur le DAT dans le striatum et le NAc chez des mâles adultes exposés en prénatal au MPH (Galineau 2005), pouvant suggérer une hyperinnervation dopaminergique dans ces structures. Cette observation ne va pas dans le sens de la première hypothèse posée. Ainsi, il semble que la diminution du taux de DA vésiculaire libérée sous stimulation puisse être la résultante soit d'un déficit de la synthèse de DA, soit d'altérations fonctionnelles des VMAT2 entraînant une diminution du stockage vésiculaire dans le NAc. Cette hypothèse est explorée un peu plus loin dans la discussion.

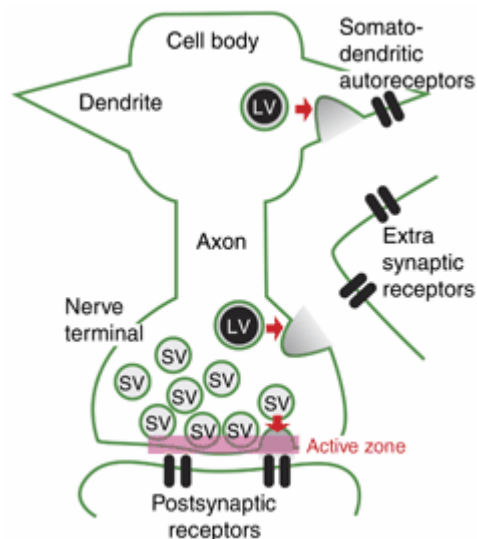
### **III. Perspectives d'études neurobiochimiques dans ces deux modèles**

#### ***A. Evaluation de différentes molécules impliquées dans le transport vésiculaire***

Une diminution de la libération de DA stimulée par l'infusion de tyramine a été observée au niveau du NAc chez la progéniture adulte à la suite de l'exposition prénatale au MPH et une même tendance au niveau du CPF chez la progéniture exposée au MDMA. Dans ces deux modèles, ce résultat suggère une diminution de la DA vésiculaire qui pourrait être induite par une altération fonctionnelle des capacités de stockage.

Le transport vésiculaire pourrait être altéré par une redistribution subcellulaire des VMAT2 et/ou des vésicules contenant les VMAT2. Il a été montré que l'administration aigüe de MDMA entraîne une diminution du transport vésiculaire de la DA au niveau du striatum (Hansen et al. 2002). A la suite d'une administration répétée de méthamphétamine, une diminution de ce transport avait déjà été montrée et associée à un phénomène de redistribution des VMAT2 de la zone active, c'est-à-dire à proximité de la membrane cytoplasmique faisant synapse avec les récepteurs postsynaptiques, vers une zone non identifiée dans l'étude (Riddle et al. 2002). De même, le MPH, tout comme la cocaïne, redistribue les VMAT2 de la zone active vers un compartiment riche en vésicules (Sandoval et al. 2002).

Différents types de vésicules sur lesquelles sont situés les VMAT2 ont pu être distinguées grâce au développement de marqueurs du VMAT2 et de la microscopie électronique. Les premières sont de petites tailles, environ 40 nm de diamètre, (Small Synaptic Vesicle, SV) et peuvent contenir de petites molécules, comme le glutamate, l'acétylcholine ou la DA. Elles sont localisées principalement dans la zone active. Les secondes sont de plus grande taille (100 nm de diamètre) et sont caractérisées par leur forte densité en électrons, en raison de la présence de protéines solubles qu'elles contiennent (Large Dense Core Vesicle, LV). Elles sont localisées préférentiellement dans les zones ectopiques aux synapses (Figure 37).



**Figure 37 : Localisation des deux types de vésicules de stockage.** SV, Small secretory vesicle ; LV, Large dense core Vesicle. (d'après Fei et al. 2008).

Le VMAT2 peut être aussi localisé sur des vésicules tubulaires qui ressemblent anatomiquement à des saccules du réticulum endoplasmique lisse et sont retrouvées à proximité de l'appareil de Golgi. Le rôle de ces différentes vésicules n'est pas clairement défini. Cependant, les SV participeraient principalement à la libération exocytotique, les LV au transport, au stockage et à la libération non exocytotique de la DA et les vésicules tubulaires seraient impliquées dans la synthèse, le transport et le recyclage des membranes contenant le VMAT2. Au niveau des terminaisons axonales, les VMAT2 sont localisés à la fois sur les SV et les LV (Nirenberg et al. 1996, 1997). Il est donc imaginable qu'une modification de la distribution relative des VMAT2 sur l'un ou l'autre type de vésicule altère l'homéostasie de la DA au sein des différents compartiments subcellulaires et par conséquent modifie les sites et les taux de libération de la DA vésiculaire à la suite de stimulations (Fei et al. 2008). Ainsi, l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH pourrait entraîner à long terme une distribution subcellulaire anormale des VMAT2 dans les terminaisons des neurones dopaminergiques qui pourrait être la cause de troubles de la transmission synaptique dopaminergique. Dans cette hypothèse, il serait intéressant de s'attarder sur l'expression de certaines protéines impliquées dans le transport vésiculaire et dans les mécanismes de régulation des pools vésiculaires.

- Un des acteurs moléculaires candidats pour réguler la disponibilité des vésicules est la synapsine (Llinas et al. 1985). Cette protéine est activée par phosphorylation de façon  $\text{Ca}^{2+}$ -dépendante. Il a été montré qu'en condition de repos, la synapsine est étroitement



regroupée autour des vésicules, mais est retrouvée dispersée et éloignée des clusters vésiculaires à la suite d'une stimulation (Chi et al. 2001). Des ablations génétiques de la synapsine entraînent des perturbations des pools vésiculaires synaptiques (Ryan et al. 1996).

- De plus, l'étude de la synaptotagmine pourrait être une perspective d'intérêt dans nos modèles. En effet, cette protéine joue un rôle dans la redistribution et la fixation des vésicules de stockage (Ullrich et al. 1994), mais aussi dans la croissance des projections neuronales (Fukuda et Mikoshiba 2000 ; Ibata et al. 2000). Ainsi, on peut imaginer que l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH induise à long terme des troubles de son expression.

- Une troisième molécule qui serait intéressante à étudier dans notre modèle est l' $\alpha$ -synucléine. Bien que son rôle ne soit pas clairement défini, différentes études ont montré son implication dans l'activité synaptique et dans la synthèse et la maintenance des pools de réserve des vésicules de stockage (Abeliovich et al. 2000 ; Cabin et al. 2002 ; Liu et al. 2004 ; Yavich et al. 2004). L' $\alpha$ -synucléine est localisée sur les vésicules de stockage (Lee et al. 2008). Une augmentation de l'expression de cette protéine entraîne l'augmentation de la libération de DA induite à la suite de stimulations comportementales dans le striatum (Cabin et al. 2002). Ainsi, on peut émettre l'hypothèse que dans nos modèles, une diminution de l'expression de l' $\alpha$ -synucléine pourrait être à l'origine de ce déficit de la neurotransmission au niveau cortical et accumbal.

Très peu d'études se sont intéressées aux effets du MDMA sur l'expression de ces molécules chez le rat adulte. Elles ont été réalisées chez la souris. Une étude a montré qu'une administration aigue de MDMA induit des perturbations de l'expression des synaptotagmines de types I et IV au niveau du mésencéphale, mais pas au niveau du cortex frontal (Peng et al. 2002). Une autre a mis en évidence une augmentation de l'expression d' $\alpha$ -synucléine dans la SNc chez la souris adulte à la suite d'une administration de MDMA (Fornai et al. 2005). Aucun résultat n'est à ce jour disponible sur les effets d'une exposition au MPH sur l'expression de ces molécules impliquées dans le transport de la DA au niveau synaptique.

## **B. Caractérisations complémentaires des voies dopaminergiques**

### **1. Evaluation stéréologique des fibres TH+ dans le cortex**

Une évaluation stéréologique des fibres dopaminergiques TH+ au niveau cortical pourrait nous permettre d'apprécier indirectement les capacités de synthèse de la DA et de quantifier la densité des fibres de projection dopaminergique. Ces résultats nous permettraient de répondre à deux questions soulevées par les résultats du modèle d'exposition au MDMA :

- la probable diminution du taux de DA vésiculaire est-elle le reflet d'une diminution de la synthèse de DA au niveau cortical ?
- l'augmentation de la densité de DAT observée chez les femelles MDMA reflète-elle une augmentation de la densité des fibres de projections dopaminergiques ?

### **2. Quantification des taux de DA dans le mésencéphale**

Dans nos deux modèles d'exposition prénatale, il serait aussi très intéressant de quantifier la DA au niveau du mésencéphale, et ce sous diverses approches expérimentales afin d'évaluer les différents pools de DA et sa libération sous différentes conditions. Il pourrait être envisagé de réaliser un dosage de la DA sur tissu entier mais aussi grâce aux techniques de microdialyse intracérébrale, de la DA extracellulaire libérée soit en condition basale, soit sous l'action de stimulations pharmacologiques. Une stimulation à la tyramine nous permettrait d'évaluer la DA vésiculaire et une stimulation au potassium la DA cytoplasmique. Ainsi ces études complémentaires permettraient une approche quantitative et dynamique des taux dopaminergiques au niveau des corps cellulaires. Ces résultats nous permettraient de répondre à deux questions :

- la diminution du nombre de corps cellulaires TH+ et les modifications de la densité des transporteurs membranaires et vésiculaires dans l'ATV et la SNc observés chez la progéniture exposée au MDMA ont-ils une relevance fonctionnelle sur la neurotransmission somatodendritique de la DA en condition basale et stimulée ?
- les altérations neurobiochimiques au niveau des projections synaptiques dans le CPF ou le NAc sont-elles liées à des troubles d'autoinhibition ? En effet, dans l'ATV et la SNc, la

DA a une action inhibitrice sur la neurotransmission axonale, en se fixant sur les autorécepteurs RD2. Il est bien défini aujourd'hui que la décharge neuronale (Bernardini et al. 1991 ; White et Wang 1984) et la libération de la DA au niveau des terminaisons synaptiques (Kalivas et Duffy 1991 ; Zhang et al. 1994) est régulée en partie par la libération de la DA au niveau somatodendritique.

### ***C. Evaluation neurobiochimique des autres systèmes de neurotransmission monoaminergique***

Au niveau de l'hippocampe, l'augmentation du taux de BDNF observée chez la progéniture adulte exposée au MDMA en période prénatale, pourrait être corrélée à des altérations neurobiochimiques de la fonction sérotoninergique. En effet, le BDNF et la 5-HT sont deux molécules aux fonctions inter-liées. Alors que le BDNF stimule la survie des neurones sérotoninergiques, la 5-HT exerce un contrôle sur l'expression du BDNF (Mattson et al. 2004). Le BDNF permet la différenciation, le maintien et la survie des neurones sérotoninergiques. Les études réalisées in vivo et in vitro mettent toutes en évidence que l'administration de BDNF entraîne une augmentation du nombre de neurones sérotoninergiques, et de leurs marqueurs ainsi qu'une intense arborisation des fibres axonales (Eaton et Whittemore 1996 ; Zhou et al. 2000 ; Rumajogee et al. 2002 ; Djalali et al. 2005). À l'inverse, une diminution du BDNF est associée à une perte d'innervation sérotoninergique dans l'hippocampe chez la souris âgée (Luellen et al. 2007). Réciproquement, un grand nombre d'études suggère que la neurotransmission sérotoninergique exerce un contrôle sur l'expression du BDNF. L'hypothèse la plus répandue est que la 5-HT stimule l'expression du BDNF (Martinowich et Lu 2008). Cependant, certaines conclusions sont plus réservées quant à l'effet positif de la 5-HT sur le BDNF (Szapacs et al. 2004). Par exemple, des manipulations pharmacologiques du taux de 5-HT cérébrale ont mis en évidence que la régulation de l'expression du BDNF par la 5-HT est dépendante de la région cérébrale. Une augmentation du taux de 5-HT cérébrale entraîne une diminution de l'expression du BDNF au niveau de l'hippocampe et une augmentation au niveau cortical. À l'inverse, une déplétion de la 5-HT cérébrale induit une augmentation de l'expression du BDNF dans l'hippocampe (Zetterström et al. 1999). En se basant sur les résultats de cette étude, nous pourrions

expliquer l'augmentation de BDNF hippocampale retrouvée chez nos rats MDMA par une diminution de la fonction sérotoninergique. Dans cette structure avait déjà été montrée une diminution du taux extracellulaire de 5-HT vésiculaire libérée sous stimulation à la fenfluramine (Galineau et al. 2005), soulignant un déficit de la neurotransmission sérotoninergique. Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer cette forte diminution : 1) une réduction de fibres sérotoninergique, 2) une baisse de l'activité de la tryptophane hydroxylase, l'enzyme limitante de la synthèse de 5-HT, et/ou 3) une altération du transport vésiculaire dans l'hippocampe. Ainsi, différentes expériences dans ce modèle animal, telles que l'évaluation du taux de tryptophane hydroxylase, de la densité des transporteurs de la 5-HT, du taux tissulaire ou cytoplasmique de 5-HT dans l'hippocampe, pourraient être menées pour répondre à ces hypothèses.

Les systèmes noradrénergiques pourraient aussi être altérés par l'exposition prénatale au MDMA. En effet, l'administration aigue de MDMA induit un fort relargage de noradrénaline (NA) dans la fente synaptique (Johnson et al. 1991). Cependant, les conséquences d'une exposition répétée au MDMA au cours du développement sur ces systèmes sont peu étudiées. Il a néanmoins été rapporté une diminution du taux de NA dans l'hippocampe de rats adultes exposés en période néonatale au MDMA (Broening et al. 2001). Dans notre modèle, il n'est pas exclu que l'exposition prénatale induit des altérations persistantes des voies noradrénergiques. Par exemple, la modification de la densité des VMAT2 dans le mésencéphale pourrait en partie refléter des modifications de la neurotransmission noradrénergiques, puisque ce transporteur n'est pas spécifique de la DA. La fixation de [<sup>3</sup>H]-DTBZ au niveau de l'ATV et de la SNc peut tout autant être un indice la densité de VMAT2 situés dans les terminaisons synaptiques de neurones noradrénergiques issus du locus coeruleus (Hervé et al. 1987 ; Grenhoff et al. 1995 ; Vertes et al. 1999). De plus, la diminution du pool de DA libérée sous stimulation pharmacologique observée dans le CPF peut être en partie la résultante d'une diminution de la DA vésiculaire stockée dans les neurones noradrénergiques.

Ainsi, il reste encore un vaste champ d'études à explorer pour caractériser des potentielles atteintes à long terme induites par l'exposition prénatale au MDMA sur le système sérotoninergique et noradrénergique tant au niveau des corps cellulaires que des zones riches en afférences.

## **IV. Exposition prénatale au MDMA et au MPH : facteurs de vulnérabilité dans les maladies neuropsychiatriques ?**

Chez l'Homme, le dysfonctionnement des voies dopaminergiques est impliqué dans un certains nombres d'affections, comme la maladie de Parkinson (DeLong 1990), la schizophrénie (Goldstein et Deutch 1992) et l'addiction (Hyman et al. 2001). Ainsi, les altérations dopaminergiques observées dans les deux modèles d'exposition aux psychostimulants pourraient avoir une implication dans la survenue de ces affections.

### ***A. Hyporégulation du phénotype dopaminergique des neurones mésencéphaliques : neurodégénérescence ?***

Depuis quelques années, on observe une augmentation du nombre d'études sur les modèles animaux suggérant que la survenue de certains facteurs environnementaux au cours de la période périnatale et prénatale chez le rongeur (comme les expositions à des pesticides, à la cocaïne, une alimentation trop riche en fer, ou des infections bactériennes), peut entraîner une réduction du nombre de neurones dopaminergiques ou induire une augmentation de la susceptibilité de ces neurones à dégénérer au cours du vieillissement normal ou à la suite « d'insultes » ultérieures (Barlow et al. 2007). Une étude récente a mis en évidence que l'exposition prénatale à la cocaïne chez la souris potentialise l'effet neurotoxique de l'administration de MPTP au stade adulte (Lloyd et al. 2006). Cette étude suggère que l'administration d'un psychostimulant au cours de fenêtres précises du développement pourrait être un facteur prédisposant au développement de la maladie de Parkinson. Cette maladie neurodégénérative est caractérisée par une perte neuronale intense et progressive des corps cellulaires dopaminergiques de la SNc, consécutivement associée à une perte de l'innervation dopaminergique au niveau striatal.

Un des résultats les plus importants obtenu dans notre modèle d'exposition prénatale au MDMA est la diminution du nombre de corps cellulaire TH+ dans l'ATV et la SNc. Il serait donc très intéressant de quantifier à différents stades du vieillissement le nombre de corps cellulaires TH+ chez ces rats afin de déterminer si l'exposition prénatale au MDMA induit une réduction stable du nombre de neurones dopaminergiques chez l'adulte ou si elle

entraîne l'apparition d'un processus neurodégénératif. Dans les deux cas, il serait intéressant de tester si l'exposition prénatale au MDMA vulnérabilise les voies dopaminergiques à un stade adulte à des effets neurotoxiques, induits par exemple par la 6-OHDA.

De plus, afin de mieux comprendre la mécanistique et les causes de la perte du phénotype dopaminergique observée chez les animaux MDMA, nous pourrions nous intéresser à d'autres molécules potentiellement impliquées dans les processus dégénératifs des neurones dopaminergiques. Les études sur les maladies impliquant une neurodégénérescence dopaminergique ont souligné l'implication de différentes molécules. L' $\alpha$ -synucléine est une protéine très largement exprimée dans le SNC. Bien que sa fonction physiologique reste encore mal connue, différentes études lui attribuent un rôle dans les processus membranaires de libération des neurotransmetteurs (Abeliovich et al. 2000 ; Murphy et al. 2000). Il a été montré qu'une hyporégulation du phénotype dopaminergique était associée à une augmentation du taux d' $\alpha$ -synucléine (Chu et al. 2007). De plus, cette relation entre le taux  $\alpha$ -synucléine et l'expression de TH a déjà été mise en évidence au niveau des neurones dopaminergiques chez l'homme âgé ainsi que chez les patients touchés par la maladie de Parkinson (Goedert 2001). La perte du phénotype dopaminergique a aussi été reliée à une diminution de l'expression de Nurr1 (Chu et al. 2002, 2006). Ce facteur de transcription est très exprimé dans la SN et l'ATV (Zetterstrom et al. 1996). Il est connu pour avoir un rôle essentiel dans la survie et le fonctionnement des neurones DA pendant le développement (Saucedo-Cardenas et al. 1998), mais aussi dans la régulation du phénotype et de la fonction du neurone DA chez l'adulte (Bannon et al. 2002 ; Le et al. 1999 ; Zheng et al. 2003). Une diminution de l'expression de ce gène entraîne une diminution du taux d'ARNm et de protéine du BDNF et de la TH (Volpicelli et al. 2007). Ainsi, l'évaluation de l'expression de l' $\alpha$ -synucléine et du facteur de transcription Nurr1 pourrait nous donner des informations supplémentaires pour mieux caractériser notre modèle, et rendre compte d'un potentiel intérêt dans l'utilisation de ce modèle d'exposition prénatale au MDMA, comme facteur prédisposant à la survenue de la maladie de Parkinson. Il est important de noter que des hypothèses récentes soulignent le fait que les maladies neurologiques apparaissant avec l'âge pourraient être la conséquence de troubles neurodéveloppementaux, plutôt qu'un processus strictement neurodégénératif (Basha et al. 2005 ; Barlow et al. 2007).

## ***B. Dopamine corticale, cognition et schizophrénie***

Dans le modèle d'exposition prénatale au MDMA, nous avons mis en évidence des altérations neurobiochimiques de la voie dopaminergique mésocorticale chez la progéniture adulte, que nous avons associées à des troubles du comportement dirigé vers un but, à une persévérance et un déficit d'habituation, caractérisé par un comportement d'exploration permanent (Koprich et al. 2003 ; Galineau et al. 2005 ; Thompson et al. 2009). Ces comportements anormaux reflètent globalement des troubles des fonctions exécutives. En psychologie, ces fonctions désignent un ensemble assez hétérogène de processus cognitifs de haut niveau permettant un comportement flexible et adapté au contexte. La schizophrénie est une forme majeure de maladie psychotique caractérisée par des troubles des fonctions exécutives. Par exemple, une large majorité de patients schizophrènes montre des difficultés dans le processus d'initiation de mouvements, associé à une hyperactivité et à une persévérance anormale. Ce trouble de la persévérance peut refléter une difficulté de transfert d'attention ou un manque de flexibilité mentale. Des déficits dans le processus d'évaluation d'une situation sont aussi retrouvés dans cette pathologie et peuvent résulter d'un comportement d'exploration permanent et rendre compte d'un trouble du comportement dirigé vers un but (Crow 1980). Ainsi, dans les modèles d'exposition prénatale au MDMA, les troubles comportementaux observés à long terme chez la progéniture pourraient être rapprochés à certains des symptômes observés chez les schizophrènes.

Il est bien établi que les anomalies du système dopaminergique central jouent un rôle majeur dans la pathophysiologie de la schizophrénie et dans d'autres maladies psychiatriques (Carlsson 1977 ; Deutch 1992 ; Di Forti et al. 2007 ; Meltzer et Stahl 1976 ; Seeman 1987 ; Snyder 1976). Pour certains auteurs la réactivité anormale des projections dopaminergiques de la voie mésolimbique est à l'origine de l'expression des symptômes psychotiques de la schizophrénie (Kapur 2003 ; Laruelle et al. 1999). Pour d'autres, les troubles cognitifs persistants retrouvés chez l'individu schizophrène, sont au moins en partie la conséquence d'un hypofonctionnement dopaminergique au niveau du CPF (Castner et al. 2000 ; Goldman-Rakic et al. 2004). L'hypothèse dopaminergique révisée de la schizophrénie souligne plutôt l'existence d'un déséquilibre entre les deux systèmes (Abi-Dargham et Moore 2003 ; Guillin et al. 2007 ; Jarskog et al. 2007 ; Winterer et Weinberger 2004). L'existence de dysfonctionnements au niveau du CPF dans la schizophrénie a été mise en évidence par des études de modèles animaux dans lesquelles les lésions du CPF ou l'injection de substances

pharmacologiques entraînent des effets comportementaux modélisant certains symptômes de la schizophrénie. Un de ces modèles est la « prépulse inhibition » (PPI) du réflexe de sursaut provoquée par un stimulus sonore chez le rat (Braff et Geyer 1990 ; Swerdlow et al. 1992, 1994). La PPI est la réduction d'une réponse de sursaut provoquée par un stimulus sonore (pulse) par la présence d'un stimulus d'intensité plus faible (prepulse) quelques millisecondes avant le pulse (Hoffman et Ison 1980). De nombreuses études ont montré que les schizophrènes présentent une diminution de la PPI (Braff et al. 1978 ; Swerdlow et al. 1994). L'implication de la DA corticale dans la schizophrénie a été mise en évidence grâce à ce modèle : la déplétion de DA par une lésion à la 6-OHDA dans le CPF (Bubser et Koch 1994) ou l'injection locale dans le CPF d'antagonistes des RD1 et RD2 (Ellenbroek et al. 1996) altèrent la PPI chez le rat. Par conséquent, le recours à ce test pourrait nous donner de très riches informations concernant la relevance fonctionnelle des troubles neurobiochimiques de la voie mésocorticale observés chez les animaux exposés en prénatal au MDMA.

Il existe de multiples évidences qui suggèrent que la schizophrénie a des origines neurodéveloppementales ; c'est-à-dire que l'origine serait la survenue de processus pathologiques ou d'agressions cérébrales au cours du développement du cerveau bien avant que la maladie ne se manifeste cliniquement (Murray et al. 1992 ; Rapoport et al. 2005). Associés à une contribution génétique assez forte (Harrison et Weinberger 2005), certains facteurs environnementaux augmentent le risque de développer une schizophrénie ou d'autres maladies psychiatriques (Dean et Murray 2005 ; McDonald et Murray 2000 ; Opler et Susser 2005). L'exposition maternelle à des agents infectieux est associée à une augmentation du risque pour l'enfant de développer la schizophrénie (Brown et Susser 2002). La réponse inflammatoire associée à l'élévation maternelle de cytokines semble être impliquée dans le mécanisme reliant ces deux phénomènes. Une étude prospective a corrélié une augmentation du taux d'interleukine-8 (IL-8) au cours du second trimestre de grossesse avec le risque de développement de la schizophrénie (Brown et al. 2004). En plus de leur rôle immunologique (Curfs et al. 1997), les cytokines sont impliquées dans les processus de survie (Yang et al. 2002), de différenciation (Jarskog et al. 1997) et de synaptogénèse (Gilmore et al. 2004) des neurones au cours du développement. Donc, des variations des taux de cytokines dans l'environnement fœtal peuvent entraîner des troubles du développement du SNC et contribuer au développement futur de troubles psychocomportementaux (Romero et



al. 2007 ; Zuckerman et al. 2003). L'administration répétée de MDMA entraîne l'augmentation de cortisol (Gerra et al. 2003), et de cytokines (Connor 2004). Ainsi, en réponse à l'administration de MDMA, on peut penser que les mères gestantes déclenchent une réponse inflammatoire qui induirait une augmentation de cytokines dans le sang et dans le compartiment fœtal. Il est donc possible que les conséquences à long terme observées dans notre modèle soient en partie la résultante de cette réponse maternelle, comme il est suggéré dans les modèles de schizophrénie. Le dosage des cytokines pourrait être réalisé chez les mères gestantes, mais aussi chez la progéniture à différents stades pré et postnataux.

### ***C. Exposition prénatale au MPH : facteur protecteur contre l'addiction ?***

L'addiction est une maladie chronique composée d'épisodes de rechute pendant lesquels des comportements compulsifs de recherche et de prise de drogues persistent malgré des conséquences négatives. Les substances addictives, comme les psychostimulants, l'alcool, la nicotine ou la marijuana, induisent un état de plaisir et de relâchement mental, qui sont des effets contribuant à leur usage récréatif. Cependant, la consommation répétée de ces molécules entraîne des modifications adaptatives du SNC qui sont impliquées dans le phénomène de dépendance, correspondant au passage de simples consommations à l'abus (Koobs et al. 1992 ; Nestler 2001). Chez l'animal adulte, l'exposition répétée aux psychostimulants entraîne le développement d'une sensibilisation comportementale caractérisée par une augmentation progressive de l'activité de locomotion (Robinson et Berridge 2001). Cette sensibilisation serait à l'origine du développement des comportements compulsifs de recherche et de prise de drogues, soit à la dépendance de celles-ci (Everitt et Wolf 2002 ; Covington et Miczek 2001).

Au niveau cellulaire, la sensibilisation comportementale implique très fortement la voie mésolimbique du système dopaminergique. Alors que l'induction de la sensibilisation semble être sous la dépendance de modifications fonctionnelles au niveau de l'ATV (Vezina et al. 2002), l'expression de ce phénomène se situe au niveau du NAc (Pierce et Kalivas 1997 ; Vanderschuren et Kalivas 2000), où la libération de DA est augmentée de façon durable à la suite d'exposition répétée (Akimoto et al. 1990 ; Kalivas et Duffy 1990, 1993 ;

Patrick et al. 1991 ; Robinson et al. 1988). Une sensibilisation neurobiochimique est aussi observée dans le striatum (Paulson et Robinson 1995). Ainsi, les voies mésolimbique et nigrostriée semblent toutes deux être impliquées dans la sensibilisation comportementale.

L'administration répétée de MPH, quelque soit la fenêtre d'exposition en période postnatale, entraîne des perturbations des systèmes de récompense. Chez l'adulte, une pré-exposition au MPH entraîne une sensibilisation comportementale manifeste à la suite d'administration unique de psychostimulants comme la cocaïne ou l'amphétamine (Crawford et al. 1998 ; Kuczenski et Segal 2001 ; Brandon et al. 2001), potentialise l'auto administration de psychostimulants (Schenk et Izenwasser 2002), et augmente la préférence de lieu conditionnée à la cocaïne (Meririnne et al. 2001). De façon uniforme, l'ensemble de ces études suggère que l'exposition au MPH induit chez le rat adulte une sensibilisation du comportement de récompense et donc une prédisposition à l'addiction.

Par contre, chez le rat juvénile, les résultats sont plus hétérogènes. Bien que certains auteurs suggèrent que l'exposition répétée au MPH entre P20 et P40 vulnérabilise les systèmes de récompense et entraîne une prédisposition à l'addiction (Brandon et al. 2001 ; Torres-Reveron et Dow-Edwards 2005), d'autres démontrent une diminution des effets appétitifs et récompensants de la cocaïne au stade adulte, suggérant une hyposensibilisation des systèmes de récompense (Andersen et al. 2002 ; Carlezon et al. 2003 ; Mague et al. 2005 ; Bolanos et al. 2008, Wiley et al. 2009 ; Britton et al. 2007). Une des hypothèses avancées pour concilier les différents résultats dans ces modèles d'exposition est que l'administration de MPH pendant l'adolescence (P35-45) augmente la sensibilité aux drogues au stade adulte, alors qu'elle la diminue après une exposition en période pré-adolescente (P20-P35) (Andersen et al. 2002). Ainsi, en fonction de la période d'exposition au cours du développement postnatal, l'administration de MPH prédisposerait ou protégerait l'individu à l'addiction.

Nous sommes les premiers à avoir mis en évidence que l'exposition prénatale au MPH induit à long terme des altérations neurobiochimiques des voies mésolimbique et nigrostriée, caractérisées par une diminution du taux de DA vésiculaire libérée sous stimulation pharmacologique au niveau du NAc, associée à une augmentation de la densité des RD2 dans l'ATV et la SNc, et de la densité des RD1 dans le striatum de la progéniture adulte.

Comme il a été mentionné précédemment, des modifications neurobiochimiques transitoires des neurones dopaminergiques dans le mésencéphale semblent être à l'origine du développement de la sensibilisation comportementale (Pierce et Kalivas 1997). Les épisodes de sevrage après une exposition répétée aux psychostimulants produisent une augmentation de l'activité basale des neurones dopaminergiques de l'ATV qui semble être le résultat d'une hyposensibilisation des RD2. En effet, l'activation des RD2 au niveau somatodendritique inhibe la décharge neuronale (Grace et Bunney 1984). Cette diminution de la sensibilité des RD2 est transitoire, mais est néanmoins nécessaire au développement de la sensibilisation comportementale aux psychostimulants. Ainsi, les RD2 au niveau du mésencéphale sont des acteurs principaux dans le développement du processus de sensibilisation. Il est cependant intéressant de noter qu'une diminution de l'activité cellulaire par l'activation pharmacologique des RD2 des neurones dopaminergiques du mésencéphale est associée à une résistance à développer un comportement d'abus chez le rat observée dans un test d'auto-administration à la cocaïne (Marinelli et White 2000). Ainsi dans notre modèle, l'augmentation de la densité des RD2 observée au niveau du mésencéphale pourrait être le reflet d'une modification neuroadaptative induite par l'exposition prénatale répétée de MPH, qui pourrait conférer à ces rats une plus grande résistance au développement d'une sensibilisation comportementale.

L'expression de la sensibilisation comportementale est sous la dépendance des modifications neurobiochimiques de la neurotransmission dopaminergique pré- et postsynaptique observées dans le NAc et le striatum. L'administration aigüe de psychostimulants entraîne l'augmentation du taux de DA extracellulaire au niveau des zones riches en afférences dopaminergiques. Cette augmentation de DA extracellulaire est potentialisée dans le NAc et le striatum à la suite de traitements répétés à différents psychostimulants (Kalivas et Pierce 1997). De plus, le blocage de la transmission dopaminergique mésoaccumbale réduit leurs effets. L'augmentation de la neurotransmission présynaptique à la suite d'expositions répétées à la cocaïne peut être la résultante d'une augmentation du taux de DA disponible dans les vésicules de libération, d'une diminution du taux de recapture de la DA de la fente synaptique vers le milieu intraneuronal (Farfel et al. 1992 ; Pilotte et al. 1994 ; Wilson et al. 1996), et/ou d'une augmentation de l'activité de la TH (Masserano et al. 1996 ; Zhang et Angulo 1996). Dans notre étude, une diminution du taux de DA vésiculaire a été mise en évidence au niveau du NAc de la progéniture adulte

exposée en prénatal au MPH. De plus, dans des études antérieures réalisées sur le même modèle d'exposition, une augmentation de la densité du DAT avait été montrée au niveau du NAc et du striatum (Galineau 2005). Ainsi, ces résultats tendent à montrer que l'exposition prénatale au MPH induit à long terme une diminution de la transmission présynaptique dopaminergique, qui pourrait être le reflet d'un processus d'hyposensibilisation des voies impliquées dans le système de récompense, mis en place par le cerveau en développement et encore présent au stade adulte. Une étude comportementale réalisée dans des travaux antérieurs (Galineau 2005) sur le même modèle d'exposition appuie cette hypothèse puisqu'elle met en évidence une diminution très importante de la préférence au saccharose chez des rats mâles adultes exposés en période prénatale au MPH (E13-E20). Il est bien établi que la voie mésolimbique est très impliquée dans la régulation du comportement de récompense dans les réponses tant aux drogues d'abus qu'aux récompenses naturelles (Di Chiara et North 1992 ; Kelley et Berridge 2002 ; Robbins et Everitt 1996 ; Wise et Bozart 1987). En effet, une solution sucrée a des effets appétitifs ou récompensants qui activent le système dopaminergique mésolimbique chez le rat (Datta et al. 2002 ; Hajnal et Norgren 2001). Des lésions de cette voie bloquent la préférence naturelle au saccharose (Shimura et al. 2002). Ainsi, une diminution de la préférence au saccharose peut refléter une diminution de la réceptivité ou une hyposensibilisation de l'animal aux effets récompensants.

Une sensibilisation neurobiochimique a aussi été mise en évidence au niveau postsynaptique chez des rats au phénotype addictif (qui présente une sensibilisation comportementale), caractérisée par une diminution du taux des RD1 dans le striatum (Farfel et al. 1992 ; Kleven et al. 1990 ; Moore et al. 1998 ; Tsukada et al. 1996). Ainsi, il semble qu'une diminution de la disponibilité des RD1 participe aux processus d'addiction. De plus, l'implication des RD1 dans ce phénotype est mise en évidence dans des études pharmacologiques démontrant que le prétraitement par des agonistes des RD1 réduit l'auto-administration de cocaïne, et l'administration d'antagonistes l'augmente (Koob et al. 1987 ; Corrigall et Coen 1991 ; Caine et al. 1999). De même, les agonistes des RD1 atténuent l'envie de consommer de la cocaïne à la suite de pré-exposition (Alleweireldt et al. 2003). Ces résultats suggèrent que ces récepteurs ont un rôle inhibiteur dans la prise de cocaïne. Des études suggèrent même que l'induction d'une augmentation de la signalisation de ces récepteurs pourrait être utilisée dans le traitement de l'addiction (Self et al. 1996, 2000). Dans notre étude, la densité des RD1 dans le striatum est retrouvée augmentée chez les rats

exposés en prénatal au MPH et pourrait donc représenter un marqueur de l'effet protecteur de l'exposition prénatale au MPH contre le développement de sensibilisation menant à l'addiction.

Ainsi, nos résultats suggèrent que l'exposition prénatale au MPH induit une hyposensibilisation à long terme des voies impliquées dans les systèmes de récompense. L'administration de MPH pendant une période du développement très précoce serait un facteur de protection, plutôt qu'un facteur de risque, contre le développement d'addiction au stade adulte. Pour confirmer notre hypothèse, il serait nécessaire de réaliser sur la progéniture adulte exposée au MPH en prénatal, une série de tests comportementaux permettant d'évaluer plus spécifiquement les réponses comportementales aux effets appétitifs ou récompensants et renforçant de la cocaïne par exemple, dans des tests de conditionnement de lieu et d'auto-administration. De plus, il est nécessaire de continuer la caractérisation neurobiochimique des systèmes dopaminergiques de ces animaux.

## Conclusion

Nous avons démontré que l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH induit des altérations neurobiochimiques des systèmes dopaminergiques. Bien que ces deux molécules fassent partie de la classe des psychostimulants et qu'elles aient en commun d'induire l'augmentation de DA dans la fente synaptique, leurs conséquences à long terme à la suite d'une exposition prénatale sont différentes. Le MDMA induit une diminution du phénotype dopaminergique au niveau du mésencéphale et altère spécifiquement la voie mésocorticale au stade adulte. Le MPH administré en prénatal entraîne, quant à lui, des modifications au niveau de la voie mésolimbique. Ces résultats suggèrent que l'exposition à ces deux psychostimulants au cours d'une période précoce du développement altère les fonctions de ces systèmes dopaminergiques, pouvant induire des troubles comportementaux. En parallèle, ces altérations peuvent modifier la sensibilité des neurones dopaminergiques à des expositions futures à différents stimulants ou toxiques les ayant pour cible. Bien qu'il soit difficile d'extrapoler les résultats obtenus sur le rat à l'homme, nos modèles animaux peuvent servir à orienter les recherches cliniques et à prédire les conséquences à long terme que

peuvent produire l'administration de ces psychostimulants au cours du développement. De plus, ils pourraient nous permettre d'appréhender les mécanismes potentiellement impliqués dans l'apparition de maladies neurodéveloppementales ou neurodégénératives.

# Bibliographie

- Abeliovich, A., Schmitz, Y., Fariñas, I., Choi-Lundberg, D., Ho, W.H., Castillo, P.E., Shinsky, N., Verdugo, J.M., Armanini, M., Ryan, A., Hynes, M., Phillips, H., Sulzer, D., Rosenthal, A. Mice lacking alpha-synuclein display functional deficits in the nigrostriatal dopamine system. *Neuron*. 2000, 25:239-52.
- Abi-Dargham, A., Moore, H. Prefrontal DA transmission at D1 receptors and the pathology of schizophrenia. *Neuroscientist*. 2003 9(5):404-416.
- Acquas, E., Marrocu, P., Pisanu, A., Cadoni, C., Zernig, G., Saria, A., Di Chiara, G. Intravenous administration of ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine) enhances cortical and striatal acetylcholine release in vivo. *Eur J Pharmacol*. 2001, 418(3):207-211.
- Adriani, W., Leo, D., Greco, D., Rea, M., di Porzio, U., Laviola, G., Perrone-Capano, C. Methylphenidate administration to adolescent rats determines plastic changes on reward-related behavior and striatal gene expression. *Neuropsychopharmacology*. 2006, 31(9):1946-1956.
- Adrien, J., Laguzzi, R., Bourgoin, S., Hamon, M. Sleep in the rat following raphe lesion: pharmacology of the serotonin system. *Waking Sleeping*. 1980, 4(2):119-129.
- Aguirre, N., Barrionuevo, M., Lasheras, B., Del Río, J. The role of dopaminergic systems in the perinatal sensitivity to 3, 4-methylenedioxymethamphetamine-induced neurotoxicity in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998, 286(3):1159-1165.
- Ahlenius, S., Larsson, K., Svensson, L. Further evidence for an inhibitory role of central 5-HT in male rat sexual behavior. *Psychopharmacol*. 1980, 68(3):217-220.
- Akbari, H.M., Azmitia, E.C. Increased tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the rat cortex following prenatal cocaine exposure. *Brain Res Dev Brain Res*. 1994, 66(2):277-281.
- Akimoto, K., Hamamura, T., Kazahaya, Y., Akiyama, K., Otsuki, S. Enhanced extracellular dopamine level may be the fundamental neuropharmacological basis of cross-behavioral sensitization between methamphetamine and cocaine--an in vivo dialysis study in freely moving rats. *Brain Res*. 1990, 507(2):344-346.
- Alciati, A., Scaramelli, B., Fusi, A., Butteri, E., Cattaneo, M.L., Mellado, C. Three cases of delirium after "ecstasy" ingestion. *J Psychoactive Drugs*. 1999, 31(2):167-170.
- Alleweireldt, A.T., Kirschner, K.F., Blake, C.B., Neisewander, J.L. D1-receptor drugs and cocaine-seeking behavior: investigation of receptor mediation and behavioral disruption in rats. *Psychopharmacology*, 2003 168(1-2):109-117.
- Allot, K., Redman, J. Are there sex differences associated with the effects of ecstasy/3-4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)? *Neurosci Biobehav Rev*. 2007, 31:327-347.
- Altar, C.A., Boylan, C.B., Fritsche, M., Jones, B.E., Jackson, C., Wiegand, S.J., Lindsay, R.M., Hyman, C. Efficacy of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 on neurochemical and behavioral deficits associated with partial nigrostriatal dopamine lesions. *J Neurochem*. 1994, 63(3):1021-1032.
- Altar, C.A., Boylan, C.B., Jackson, C., Hershenson, S., Miller, J., Wiegand, S.J., Lindsay, R.M., Hyman, C. Brain-derived neurotrophic factor augments rotational behavior and nigrostriatal dopamine turnover in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992, 89(23):11347-1151.
- Altar, C.A., Hauser, K. Topography of substantia nigra innervation by D1 receptor-containing striatal neurons. *Brain Res*. 1987, 410:1-11.
- Altman, J., Das, G.D. Autoradiographic and histological evidence of postnatal hippocampal neurogenesis in rats. *J Comp Neurol*. 1965, 124(3):319-335.
- Andersen, S.L., Arvanitogiannis, A., Pliakas, A.M., LeBlanc, C., Carlezon, W.A. Jr. Altered responsiveness to cocaine in rats exposed to methylphenidate during development. *Nat Neurosci*. 2002, 5:13-14.
- Angevine, J.B. Jr, Sidman, R.L. Autoradiographic study of cell migration during histogenesis of cerebral cortex in the mouse. *Nature*. 1961, 192:766-768.

- Aoyama, T., Kotaki, H., Sawada, Y., Iga, T. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of methylphenidate enantiomers in rats. *Psychopharmacol.* 1996, 127(2):117-122.
- Aponso, P.M., Faull, R.L., Connor, B. Increased progenitor cell proliferation and astrogenesis in the partial progressive 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease. *Neuroscience.* 2008, 151(4):1142-1153.
- Arnsten, A.F., Dudley, A.G. Methylphenidate improves prefrontal cortical cognitive function through alpha2 adrenoceptor and dopamine D1 receptor actions: Relevance to therapeutic effects in Attention Deficit Hyperactivity Disorder. *Behav Brain Funct.* 2005, 1:2.
- Aron, A.R., Dowson, J.H., Sahakian, B.J., Robbins, T.W. Methylphenidate improves response inhibition in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *Biol Psychiatry.* 2003, 54(12):1465-1468.
- Azmitia, E.C., Dolan, K., Whitaker-Azmitia, P.M. S-100 $\beta$ , but not NGF, EGF or insulin functions as a serotonergic growth factor. *Brain Res.* 1990, 516:354-360.
- Azmitia, E.C., Murphy, R.B., Whitaker-Azmitia, P.M. (1990) MDMA (ecstasy) effects on cultured serotonergic neurons: evidence for Ca<sup>2+</sup>(+)-dependent toxicity linked to release. *Brain Res.* 1990, 510:97-103.
- Babcock, Q., Byrne, T. Student perceptions of methylphenidate abuse at a public liberal arts college. *J Am Coll Health.* 2000, 49(3):143-145.
- Bannon, M.J., Pruetz, B., Manning-Bog, A.B., Whitty, C.J., Michelhaugh, S.K., Sacchetti, P., Granneman, J.G., Mash, D.C., Schmidt, C.J. Decreased expression of the transcription factor NURR1 in dopamine neurons of cocaine abusers. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002, 99(9):6382-6385.
- Baquet, Z.C., Bickford, P.C., Jones, K.R. Brain-derived neurotrophic factor is required for the establishment of the proper number of dopaminergic neurons in the substantia nigra pars compacta. *J Neurosci.* 2005, 25(26):6251-6259.
- Bardo, M.T., Bevins, R.A. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology.* 2000, 153:31-43.
- Barlow, B.K., Cory-Slechta, D.A., Richfield, E.K., Thiruchelvam, M. The gestational environment and Parkinson's disease: evidence for neurodevelopmental origins of a neurodegenerative disorder. *Reprod Toxicol.* 2007, 23(3):457-470.
- Basha, M.R., Murali, M., Siddiqi, H.K., Ghosal, K., Siddiqi, O.K., Lashuel, H.A., Ge, Y.W., Lahiri, D.K., Zawia, N.H. Lead (Pb) exposure and its effect on APP proteolysis and Abeta aggregation. *FASEB J.* 2005, 19(14):2083-2084.
- Battaglia, G., Brooks, B.P., Kulsakdinun, C., De Souza, E.B. Pharmacologic profile of MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) at various brain recognition sites. *Eur J Pharmacol.* 1988, 149(1-2):159-163.
- Battaglia, G., Yeh, S.Y., O'Hearn, E., Molliver, M.E., Kuhar, M.J., De Souza, E.B. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine and 3,4-methylenedioxyamphetamine destroy serotonin terminals in rat brain: quantification of neurodegeneration by measurement of [3H]paroxetine-labeled serotonin uptake sites. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987, 242(3):911-916.
- Baumann, M.H., Wang, X., Rothman, R.B. 3,4-methylenedioxymethamphetamine(MDMA) neurotoxicity in rats: a reappraisal of past and present findings. *Psychopharmacol.* 2007, 189:407-424.
- Baxter, M.G., Browning, P.G., Mitchell, A.S. Perseverative interference with object-in-place scene learning in rhesus monkeys with bilateral ablation of ventrolateral prefrontal cortex. *Learn Mem.* 2008, 15(3):126-132.
- Bayer S.A., Altman J., Russo R.J., Zhang X. (1993) Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicol.* 14:83-144.
- Baylen, C.A., Rosenberg, H. A review of the acute subjective effects of MDMA/ecstasy. *Addiction.* 2006, 101(7):933-947.
- Beckman, D.A., Schneider, M., Yourenoff, M., Tse, F.L. Developmental toxicity assessment of d,l-methylphenidate and d-methylphenidate in rats and rabbits. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2008, 83(5):489-501.



- Bedard, A.C., Ickowicz, A., Tannock, R. Methylphenidate improves Stroop naming speed, but not response interference, in children with attention deficit hyperactivity disorder. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2002, 12(4):301-309.
- Ben-Jonathan, N., Hnasko, R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocr Rev.* 2001, 22(6):724-763.
- Berger, B., Alvarez, C., Goldman-Rakic, P.S. Neurochemical development of the hippocampal region in the fetal rhesus monkey. I. Early appearance of peptides, calcium-binding proteins, DARPP-32, and monoamine innervation in the entorhinal cortex during the first half of gestation (E47 to E90). *Hippocampus.* 1993, 3(3):279-305.
- Berger, U.V., Gu, X.F., Azmitia, E.C. The substituted amphetamines 3,4-methylenedioxymethamphetamine, methamphetamine, p-chloroamphetamine and fenfluramine induce 5-hydroxytryptamine release via a common mechanism blocked by fluoxetine and cocaine. *Eur J Pharmacol.* 1992, 215(2-3):153-160.
- Berman, S., O'Neill, J., Fears, S., Bartzokis, G., London, E.D. Abuse of amphetamines and structural abnormalities in the brain. *Ann N Y Acad Sci.* 2008, 1141:195-220.
- Bernardini, G.L., Gu, X., German, D.C. Nucleus A10 dopaminergic neurons in inbred mouse strains: firing rate and autoreceptor sensitivity are independent of the number of cells in the nucleus. *Brain Res Bull.* 1991, 27(2):163-168.
- Berridge, C.W., Devilbiss, D.M., Andrzejewski, M.E., Arnsten, A.F., Kelley, A.E., Schmeichel, B., Hamilton, C., Spencer, R.C. Methylphenidate preferentially increases catecholamine neurotransmission within the prefrontal cortex at low doses that enhance cognitive function. *Biol Psychiatry.* 2006, 60(10):1111-1120.
- Berridge, K.C., Robinson, T.E. What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev.* 1998, 28(3):309-369.
- Bexis, S., Docherty, J.R. Effects of MDMA, MDA and MDEA on blood pressure, heart rate, locomotor activity and body temperature in the rat involve alpha-adrenoceptors. *Br J Pharmacol.* 2006, 147(8):926-934.
- Beyer, C.E., Steketee, J.D. Characterization of the role of medial prefrontal cortex dopamine receptors in cocaine-induced locomotor activity. *Behav Neurosci.* 2001, 115(5):1093-1100.
- Biederman, J., Faraone, S.V. Attention-deficit hyperactivity disorder. *Lancet.* 2005, 366(9481):237-248.
- Biederman, J., Wilens, T., Mick, E., Spencer, T., Faraone, S.V. Pharmacotherapy of attention-deficit/hyperactivity disorder reduces risk for substance use disorder. *Pediatrics.* 1999, 104(2):1-20.
- Bizarro, L., Patel, S., Murtagh, C., Stolerman, I.P. Differential effects of psychomotor stimulants on attentional performance in rats: nicotine, amphetamine, caffeine and methylphenidate. *Behav Pharmacol.* 2004, 15(3):195-206.
- Björklund, A., Dunnett, S.B. Dopamine neuron systems in the brain: an update. *Trends Neurosci.* 2007, 30(5):194-202.
- Blanco, G., Diaz, H., Carrer, H.F., Beaugé, L. Differentiation of rat hippocampal neurons induced by estrogen in vitro: effects on neuritogenesis and Na, K-ATPase activity. *J Neurosci Res.* 1990, 27:47-54.
- Blöchl, A., Sirrenberg, C. Neurotrophins stimulate the release of dopamine from rat mesencephalic neurons via Trk and p75L<sub>N</sub>tr receptors. *J Biol Chem.* 1996, 271(35):21100-21107.
- Boileau, I., Rusjan, P., Houle, S., Wilkins, D., Tong, J., Selby, P., Guttman, M., Saint-Cyr, J.A., Wilson, A.A., Kish, S.J. Increased vesicular monoamine transporter binding during early abstinence in human methamphetamine users: Is VMAT2 a stable dopamine neuron biomarker? *J Neurosci.* 2008, 28(39):9850-9856.
- Bolaños, C.A., Willey, M.D., Maffeo, M.L., Powers, K.D., Kinka, D.W., Grausam, K.B., Henderson, R.P. Antidepressant treatment can normalize adult behavioral deficits induced by early-life exposure to methylphenidate. *Biol Psychiatry.* 2008, 63(3):309-316.
- Booze, R.M., Wood, M.L., Welch, M.A., Berry, S., Mactutus, C.F. Estrous cyclicity and behavioral sensitization in female rats following repeated intravenous cocaine administration. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999, 64(3):605-610.

- Borycz, J., Zapata, A., Quiroz, C., Volkow, N.D., Ferré, S. 5-HT 1B receptor-mediated serotonergic modulation of methylphenidate-induced locomotor activation in rats. *Neuropsychopharmacol.* 2008, 33(3):619-626.
- Bouthenet, M.L., Martres, M.P., Sales, N., Schwartz, J.C. A detailed mapping of dopamine D-2 receptors in rat central nervous system by autoradiography with [125I]iodosulpride. *Neuroscience.* 1987, 20:117-755.
- Boyson, S.J., Adams, C.E. D1 and D2 dopamine receptors in perinatal and adult basal ganglia. *Pediatr Res.* 1999, 41(6):822-831.
- Bradberry, C.W., Barrett-Larimore, R.L., Jatlow, P., Rubino, S.R. Impact of self-administered cocaine and cocaine cues on extracellular dopamine in mesolimbic and sensorimotor striatum in rhesus monkeys. *J Neurosci.* 2000, 15;20(10):3874-3883.
- Braff DL, Geyer MA. Sensorimotor gating and schizophrenia. Human and animal model studies. *Arch Gen Psychiatry.* 1990 Feb;47(2):181-8. Review.
- Braff, D., Stone, C., Callaway, E., Geyer, M., Glick, I., Bali, L. Prestimulus effects on human startle reflex in normals and schizophrenics. *Psychophysiology.* 1978, 15(4):339-343.
- Brandon, C.L., Marinelli, M., Baker, L.K., White, F.J. Enhanced reactivity and vulnerability to cocaine following methylphenidate treatment in adolescent rats. *Neuropsychopharmacol.* 2001, 25(5):651-661.
- Brandon, C.L., Marinelli, M., White, F.J. Adolescent exposure to methylphenidate alters the activity of rat midbrain dopamine neurons. *Biol Psychiatry.* 2003, 15;54(12):1338-1344.
- Brandon, C.L., Steiner, H. Repeated methylphenidate treatment in adolescent rats alters gene regulation in the striatum. *Eur J Neurosci.* 2003, 18(6):1584-1592.
- Brass, C.A., Glick, S.D. Sex differences in drug-induced rotation in two strains of rats. *Brain Res.* 1981, 223:229-234.
- Brazell, M.P., Mitchell, S.N., Joseph, M.H., Gray, J.A. Acute administration of nicotine increases the in vivo extracellular levels of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and ascorbic acid preferentially in the nucleus accumbens of the rat: comparison with caudate-putamen. *Neuropharmacology.* 1990, 29(12):1177-1185.
- Bredy, T.W., Grant, R.J., Champagne, D.L., Meaney, M.J. Maternal care influences neuronal survival in the hippocampus of the rat. *Eur J Neurosci.* 2003, 18(10):2903-2909.
- Brezun, J.M., Daszuta, A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience.* 1999, 89(4):999-1002.
- Briand, L.A., Gritton, H., Howe, W.M., Young, D.A., Sarter, M. Modulators in concert for cognition: modulator interactions in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol.* 2007, 83(2):69-91.
- Britton, G.B., Segan, A.T., Sejour, J., Mancebo, S.E. Early exposure to methylphenidate increases fear responses in an aversive context in adult rats. *Dev Psychobiol.* 2007, 49(3):265-275.
- Broening, H.W., Bacon, L., Slikker, W. Jr. Age modulates the long-term but not the acute effects of the serotonergic neurotoxicant 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, 271:285-293.
- Broening, H.W., Bowyer, J.F., Slikker, W. Jr. Age-dependent sensitivity of rats to the long-term effects of the serotonergic neurotoxicant (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) correlates with the magnitude of the MDMA-induced thermal response. *J Pharmacol Exp Ther.* 1995, 275:325-333.
- Broening, H.W., Morford, L.L., Inman-Wood, S.L., Fukumura, M., Vorhees, C.V. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)-induced learning and memory impairments depend on the age of exposure during early development. *J Neurosci.* 2001, 21(9):3228-3235.
- Brooks, D.J., Frey, K.A., Marek, K.L., Oakes, D., Paty, D., Prentice, R., Shults, C.W., Stoessl, A.J. Assessment of neuroimaging techniques as biomarkers of the progression of Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2003, 184:68-79.
- Brown, J., Cooper-Kuhn, C.M., Kempermann, G., Van Praag, H., Winkler, J., Gage, F.H., Kuhn, H.G. Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci.* 2003, 17(10):2042-2046.

- Brown, A.S., Hooton, J., Schaefer, C.A., Zhang, H., Petkova, E., Babulas, V., Perrin, M., Gorman, J.M., Susser, E.S. Elevated maternal interleukin-8 levels and risk of schizophrenia in adult offspring. *Am J Psychiatry*. 2004, 161(5):889-895.
- Brown, A.S., Susser, E.S. In utero infection and adult schizophrenia. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev*. 2002, 8:51-57.
- Bubeníková, V., Votava, M., Horáček, J., Páleníček, T. Relation of sex and estrous phase to deficits in prepulse inhibition of the startle response induced by ecstasy (MDMA). *Behav Pharmacol*. 2005, 16(2):127-130.
- Bubser, M., Koch, M. Prepulse inhibition of the acoustic startle response of rats is reduced by 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex. *Psychopharmacology*. 1994, 113(3-4):487-492.
- Buchert, R., Thomasius, R., Wilke, F., Petersen, K., Nebeling, B., Obrocki, J., Schulze, O., Schmidt, U., Clauser, M. A voxel-based PET investigation of the long-term effects of "Ecstasy" consumption on brain serotonin transporters. *Am J Psychiatry*. 2004, 161:1181-1189.
- Bull, E.J., Hutson, P.H., Fone, K.C. Decreased social behaviour following 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) is accompanied by changes in 5-HT<sub>2A</sub> receptor responsivity. *Neuropharmacol*. 2004, 46(2):202-120.
- Burbach, J.P., Smits, S., Smidt, M.P. Transcription factors in the development of midbrain dopamine neurons. *Ann N Y Acad Sci*. 2003, 991:61-68.
- Byrne, T., Baker, L.E., Poling, A. MDMA and learning: effects of acute and neurotoxic exposure in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 2000, 66(3):501-508.
- Byrnes, J.J., Pritchard, G.A., Koff, J.M., Miller, L.G. Prenatal cocaine exposure: decreased sensitization to cocaine and decreased striatal dopamine transporter binding in offspring. *Neuropharmacol*. 1993, 32(7):721-723.
- Cabelli, R.J., Hohn, A., Shatz, C.J. Inhibition of ocular dominance column formation by infusion of NT-4/5 or BDNF. *Science*. 1995, 267(5204):1662-1666.
- Cabelli, R.J., Shelton, D.L., Segal, R.A., Shatz, C.J. Blockade of endogenous ligands of trkB inhibits formation of ocular dominance columns. *Neuron*. 1997, 19:63-76.
- Cabin, D.E., Shimazu, K., Murphy, D., Cole, N.B., Gottschalk, W., McIlwain, K.L., Orrison, B., Chen, A., Ellis, C.E., Paylor, R., Lu, B., Nussbaum, R.L. Synaptic vesicle depletion correlates with attenuated synaptic responses to prolonged repetitive stimulation in mice lacking alpha-synuclein. *J Neurosci*. 2002, 22(20):8797-8807.
- Cadet, J.L., Ladenheim, B., Baum, I., Carlson, E., Epstein, C. CuZn-superoxide dismutase (CuZnSOD) transgenic mice show resistance to the lethal effects of methylenedioxymethamphetamine (MDA) and of methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Brain Res*. 1994, 655(1-2):259-262.
- Cailhol, S., Mormède, P. Strain and sex differences in the locomotor response and behavioral sensitization to cocaine in hyperactive rats. *Brain Res*. 1999, 842:200-205.
- Caine, S.B., Negus, S.S., Mello, N.K., Bergman, J. Effects of dopamine D(1-like) and D(2-like) agonists in rats that self-administer cocaine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999, 291:353-360.
- Callaway, C.W., Wing, L.L., Geyer, M.A. Serotonin release contributes to the locomotor stimulant effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990, 254(2):456-464.
- Cameron, H.A., Woolley, C.S., McEwen, B.S., Gould, E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience*. 1993, 56(2):337-344.
- Camp, D.M., Robinson, T.E. Susceptibility to sensitization. II. The influence of gonadal hormones on enduring changes in brain monoamines and behavior produced by the repeated administration of D-amphetamine or restraint stress. *Behav Brain Res*. 1988, 30:69-88.
- Campbell, N.G., Koprach, J.B., Kanaan, N.M., Lipton, J.W. MDMA administration to pregnant Sprague-Dawley rats results in its passage to the fetal compartment. *Neurotoxicol Teratol*. 2006, 28:459-465.

- Carelli, R.M., Deadwyler, S.A. A comparison of nucleus accumbens neuronal firing patterns during cocaine self-administration and water reinforcement in rats. *J Neurosci.* 1994, 14(12):7735-7746.
- Carlezon, W.A. Jr., Mague, S.D., Andersen, S.L. Enduring behavioral effects of early exposure to methylphenidate in rats. *Biol Psychiatry.* 2003, 54(12):1330-1337.
- Carlezon, W.A. Jr, Konradi, C. Understanding the neurobiological consequences of early exposure to psychotropic drugs: linking behavior with molecules. *Neuropharmacol.* 2004, 1:47-60.
- Carlsson, A. Does dopamine play a role in schizophrenia? *Psychol Med.* 1977, 7(4):583-597.
- Carlsson, M., Carlsson, A. In vivo evidence for a greater brain tryptophan hydroxylase capacity in female than in male rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1988, 338(4):345-349.
- Carlsson, M., Svensson, K., Eriksson E, Carlsson A. Rat brain serotonin: biochemical and functional evidence for a sex difference. *J Neural Transm.* 1985;63(3-4):297-313.
- Carrey, N., McFadyen, M.P., Brown R.E. Effects of subchronic methylphenidate hydrochloride administration on the locomotor and exploratory behavior of prepubertal mice. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2000, 10(4):277-286.
- Cases, O., Lebrand, C., Giros, B., Vitalis, T., De Maeyer, E., Caron, M.G., Price, D.J., Gaspar, P., Seif I. Plasma membrane transporters of serotonin, dopamine, and norepinephrine mediate serotonin accumulation in atypical locations in the developing brain of monoamine oxidase A knock-outs. *J Neurosci.* 1998, 18(17):6914-6927.
- Cases, O., Vitalis, T., Seif, I., De Maeyer, E., Sotelo, C., Gaspar, P. Lack of barrels in the somatosensory cortex of monoamine oxidase A-deficient mice: role of a serotonin excess during the critical period. *Neuron.* 1996, 16(2):297-307.
- Castner, S.A., Williams, G.V., Goldman-Rakic, P.S. Reversal of antipsychotic-induced working memory deficits by short-term dopamine D1 receptor stimulation. *Science.* 2000, 287(5460):2020-2022.
- Castner, S.A., Xiao, L., Becker, J.B. Sex differences in striatal dopamine: in vivo microdialysis and behavioral studies. *Brain Res.* 1993, 610:127-134.
- Castrén, E., Vöikar, V., Rantamäki, T. Role of neurotrophic factors in depression. *Curr Opin Pharmacol.* 2007, 7:18-21.
- Caudle, W.M., Richardson, J.R., Wang, M.Z., Taylor, T.N., Guillot, T.S., McCormack, A.L., Colebrooke, R.E., Di Monte, D.A., Emson, P.C., Miller, G.W. Reduced vesicular storage of dopamine causes progressive nigrostriatal neurodegeneration. *J Neurosci.* 2007, 27(30):8138-8148.
- Caviness, V.S. Jr, Takahashi, T. Proliferative events in the cerebral ventricular zone. *Brain Dev.* 1995, 17(3):159-163.
- Celada, P., Siuciak, J.A., Tran, T.M., Altar, C.A., Tepper, J.M. Local infusion of brain-derived neurotrophic factor modifies the firing pattern of dorsal raphe serotonergic neurons. *Brain Res.* 1996, 712(2):293-298.
- Challman, T.D., Lipsky, J.J. Methylphenidate: its pharmacology and uses. *Mayo Clin Proc.* 2000, 75(7):711-721.
- Chalon, S., Garreau, L., Emond, P., Zimmer, L., Vilar, M.P., Besnard, J.C., Guilloteau, D. Pharmacological characterization of (E)-N-(3-iodoprop-2-enyl)-2beta-carbomethoxy-3beta-(4'-methylphenyl)nortropane as a selective and potent inhibitor of the neuronal dopamine transporter. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999, 291:648-654.
- Chan, Y.P., Swanson, J.M., Soldin, S.S., Thiessen, J.J., Macleod, S.M., Logan, W. Methylphenidate hydrochloride given with or before breakfast: II. Effects on plasma concentration of methylphenidate and ritalinic acid. *Pediatrics.* 1983, 72:56-59.
- Chase, T.D., Carrey, N., Brown, R.E., Wilkinson, M. Methylphenidate regulates c-fos and fosB expression in multiple regions of the immature rat brain. *Brain Res Dev Brain Res.* 2005, 156:1-12.
- Chase, T., Carrey, N., Soo, E., Wilkinson, M. Methylphenidate regulates activity regulated cytoskeletal associated but not brain-derived neurotrophic factor gene expression in the developing rat striatum. *Neuroscience.* 2007, 144(3):969-984.

- Chauhan, N.B., Siegel, G.J., Lee, J.M. Depletion of glial cell line-derived neurotrophic factor in substantia nigra neurons of Parkinson's disease brain. *J Chem Neuroanat.* 2001, 21(4):277-288.
- Che, S., Johnson, M., Hanson, G.R., Gibb, J.W. Body temperature effect on methylenedioxymethamphetamine-induced acute decrease in tryptophan hydroxylase activity. *Eur J Pharmacol.* 1995, 293(4):447-453.
- Chen, Q., He, Y., Yang, K. Gene therapy for Parkinson's disease: progress and challenges. *Curr Gene Ther.* 2005, 5:71-80.
- Chen, B., Dowlatsahi, D., MacQueen, G.M., Wang, J.F., Young, L.T. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry.* 2001, 15;50(4):260-265.
- Chen, J.F., Qin, Z.H., Szele, F., Bai, G., Weiss, B. Neuronal localization and modulation of the D2 dopamine receptor mRNA in brain of normal mice and mice lesioned with 6-hydroxydopamine. *Neuropharmacol.* 1991, 30:927-941.
- Chi, P., Greengard, P., Ryan T.A. Synapsin dispersion and reclustering during synaptic activity. *Nat Neurosci.* 2001, 4(12):1187-1193.
- Chiriboga, C.A. Fetal alcohol and drug effects. *Neurologist.* 2003, 9(6):267-279.
- Chugani, D.C. Role of altered brain serotonin mechanisms in autism. *Mol Psychiatry.* 2002, 2:16-17.
- Cho, A.K., Hiramatsu, M., Distefano, E.W., Chang, A.S., Jenden, D.J. Stereochemical differences in the metabolism of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in vivo and in vitro: a pharmacokinetic analysis. *Drug Metab Dispos.* 1990, 18(5):686-691.
- Chu, Y., Kompoliti, K., Cochran, E.J., Mufson, E.J., Kordower, J.H. Age-related decreases in Nurr1 immunoreactivity in the human substantia nigra. *J Comp Neurol.* 2002, 450(3):203-214.
- Chu, Y., Kordower, J.H. Age-associated increases of alpha-synuclein in monkeys and humans are associated with nigrostriatal dopamine depletion: Is this the target for Parkinson's disease? *Neurobiol Dis.* 2007, 25:134-149.
- Chu, Y., Le, W., Kompoliti, K., Jankovic, J., Mufson, E.J., Kordower, J.H. Nurr1 in Parkinson's disease and related disorders. *J Comp Neurol.* 2006, 494(3):495-514.
- Chudasama, Y., Robbins, T.W. Dopaminergic modulation of visual attention and working memory in the rodent prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology.* 2004, 29(9):1628-1636.
- Chuhan, Y.S., Taukulis, H.K. Impairment of single-trial memory formation by oral methylphenidate in the rat. *Neurobiol Learn Mem.* 2006, 85(2):125-131.
- Clancy, B., Darlington, R.B., Finlay, B.L. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience.* 2001, 105:7-17.
- Clancy, B., Kersh, B., Hyde, J., Darlington, R.B., Anand, K.J., Finlay, B.L. Web-based method for translating neurodevelopment from laboratory species to humans. *Neuroinformatics.* 2007, 5:79-94.
- Clark, W.G., Clark, Y.L. Changes in body temperature after administration of adrenergic and serotonergic agents and related drugs including antidepressants. *Neurosci Biobehav Rev.* 1980, 4(3):281-375.
- Clarke, C., Clarke, K., Muneyirci, J., Azmitia, E., Whitaker-Azmitia, P.M. Prenatal cocaine delays astroglial maturation: immunodensitometry shows increased markers of immaturity (vimentin and GAP-43) and decreased proliferation and production of the growth factor S-100. *Brain Res Dev Brain Res.* 1996, 91(2):268-273.
- Cohen, R.S. Subjective reports on the effects of the MDMA ('ecstasy') experience in humans. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 1995, 19(7):1137-1145.
- Cohen, M.A., Skelton, M.R., Schaefer, T.L., Gudelsky, G.A., Vorhees, C.V., Williams, M.T. Learning and memory after neonatal exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) in rats: interaction with exposure in adulthood. *Synapse.* 2005, 57(3):148-159.
- Colado, M.I., Granados, R., O'Shea, E., Esteban, B., Green, A.R. The acute effect in rats of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDA, "eve") on body temperature and long term degeneration of 5-HT neurones in brain: a comparison with MDMA ("ecstasy"). *Pharmacol Toxicol.* 1999, 84(6):261-266.

- Colado, M.I., Green, A.R. The spin trap reagent alpha-phenyl-N-tert-butyl nitron prevents 'ecstasy'-induced neurodegeneration of 5-hydroxytryptamine neurones. *Eur J Pharmacol.* 1995, 280(3):343-346.
- Colado, M.I., O'Shea, E., Granados, R., Misra, A., Murray, T.K., Green, A.R. A study of neurotoxic effect of MDMA ('ecstasy') on 5-HT neurones in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. *Br J Pharmacol.* 1997, 121:827-833.
- Colado, M.I., O'Shea, E., Green, A.R. Acute and long-term effects of MDMA on cerebral dopamine biochemistry and function. *Psychopharmacol.* 2004, 173(3-4):249-263.
- Collins, L.M., Meyer, J.S. Prenatal cocaine alters dopamine transporter binding in postnatal day 10 rat striatum. *Synapse.* 1996, 23(4):335-343.
- Collins, P., Roberts, A.C., Dias, R., Everitt, B.J., Robbins, T.W. Perseveration and strategy in a novel spatial self-ordered sequencing task for nonhuman primates: effects of excitotoxic lesions and dopamine depletions of the prefrontal cortex. *J Cogn Neurosci.* 1998, 10(3):332-354.
- Commins, D.L., Vosmer, G., Virus, R.M., Woolverton, W.L., Schuster, C.R., Seiden, L.S. Biochemical and histological evidence that methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) is toxic to neurons in the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987, 241:338-345.
- Conn, P.J., Sanders-Bush, E. Regulation of serotonin-stimulated phosphoinositide hydrolysis: relation to the serotonin 5-HT-2 binding site. *J Neurosci.* 1986, 6(12):3669-3675.
- Connor, T.J. Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy'): a stressor on the immune system. *Immunology.* 2004, 111(4):357-67.
- Corrigall, W.A., Coen, K.M. Cocaine self-administration is increased by both D1 and D2 dopamine antagonists. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991, 39(3):799-802.
- Cotterly, L., Beverley, J.A., Yano, M., Steiner, H. Dysregulation of gene induction in corticostriatal circuits after repeated methylphenidate treatment in adolescent rats: differential effects on zif 268 and homer 1a. *Eur J Neurosci.* 2007, 25(12):3617-3628.
- Covington, H.E. 3<sup>rd</sup>., Miczek, K.A. Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. Effects on behavioral sensitization and intravenous cocaine self-administration "binges". *Psychopharmacology (Berl).* 2001, 158(4):388-398.
- Cowen, P.J., Anderson, I.M., Gartside, S.E. Endocrinological responses to 5-HT. *Ann N Y Acad Sci.* 1990, 600:250-257.
- Crawford, C.A., McDougall, S.A., Meier, T.L., Collins, R.L., Watson, J.B. Repeated methylphenidate treatment induces behavioral sensitization and decreases protein kinase A and dopamine-stimulated adenylyl cyclase activity in the dorsal striatum. *Psychopharmacol.* 1998, 136:34-43.
- Crawford, C.A., Villafranca, S.W., Cyr, M.C., Farley, C.M., Reichel, C.M., Gheorghe, S.L., Krall, C.M., McDougall, S.A. Effects of early methylphenidate exposure on morphine- and sucrose-reinforced behaviors in adult rats: relationship to dopamine D2 receptors. *Brain Res.* 2007, 1139:245-253.
- Crawford, C.A., Williams, M.T., Kohutek, J.L., Choi, F.Y., Yoshida, S.T., McDougall, S.A., Vorhees, C.V. Neonatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure alters neuronal protein kinase A activity, serotonin and dopamine content, and [35S]GTPgammaS binding in adult rats. *Brain Res.* 2006, 1077:178-186.
- Crespi, D., Mennini, T., Gobbi, M. Carrier-dependent and Ca(2+)-dependent 5-HT and dopamine release induced by (+)-amphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, p-chloroamphetamine and (+)-fenfluramine. *Br J Pharmacol.* 1997, 121(8):1735-1743.
- Croft, R.J., Klugman, A., Baldeweg, T., Gruzeliier, J.H. Electrophysiological evidence of serotonergic impairment in long-term MDMA ('ecstasy') users. *Am J Psychiatry.* 2001, 158(10):1687-1692.
- Crow, T.J. Positive and negative schizophrenic symptoms and the role of dopamine. *Br J Psychiatry.* 1980, 137:383-386.
- Curfs, J.H., Meis, J.F., Hoogkamp-Korstanje, J.A. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *Clin Microbiol Rev.* 1997, 10(4):742-780.
- Curzon, G. Serotonin and appetite. *Ann N Y Acad.* 1990, 600:521-531.

- Dafny, N., Yang, P.B. The role of age, genotype, sex, and route of acute and chronic administration of methylphenidate: a review of its locomotor effects. *Brain Res Bull.* 2006, 68(6):393-405.
- Dafters, R.I. Effect of ambient temperature on hyperthermia and hyperkinesia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "ecstasy") in rats. *Psychopharmacology.* 1994, 114(3):505-508.
- Dafters, R.I., Lynch, E. Persistent loss of thermoregulation in the rat induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "Ecstasy") but not by fenfluramine. *Psychopharmacology.* 1998, 138(2):207-212.
- Dahlström, A., Fuxe, K. Localization of monoamines in the lower brain stem. *Experientia.* 1964, 20(7):398-399.
- Dahlström, A., Fuxe, K. Monoamines and the pituitary gland. *Acta Endocrinol.* 1966, 51(2):301-314.
- Datla, K.P., Ahier, R.G., Young, A.M., Gray, J.A., Joseph, M.H. Conditioned appetitive stimulus increases extracellular dopamine in the nucleus accumbens of the rat. *Eur J Neurosci.* 2002, 16(10):1987-1993.
- Darchen, F., Masuo, Y., Vial, M., Rostene, W., Scherman, D. Quantitative autoradiography of the rat brain vesicular monoamine transporter using the binding of [3H]dihydrotetrabenazine and 7-amino-8-[125I]iodoketanserin. *Neuroscience.* 1989, 33(2):341-349.
- Dawirs, R.R., Hildebrandt, K., Teuchert-Noodt, G. Adult treatment with haloperidol increases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. *J Neural Transm.* 1998, 105(2-3):317-327.
- Dean, K., Murray, R.M. Environmental risk factors for psychosis. *Dialogues Clin Neurosci.* 2005, 7:69-80.
- Debooy, V.D., Seshia, M.M., Tenenbein M., Casiro, O.G. Intravenous pentazocine and methylphenidate abuse during pregnancy. Maternal lifestyle and infant outcome. *Am J Dis Child.* 1993, 147(10):1062-1065.
- De la Torre, R., Farré, M., Ortuño, J., Mas, M., Brenneisen, R., Roset, P.N., Segura, J., Camí, J. Non-linear pharmacokinetics of MDMA ('ecstasy') in humans. *Br J Clin Pharmacol.* 2000, 49(2):104-109.
- DeLong, M.R. Primate models of movement disorders of basal ganglia origin. *Trends Neurosci.* 1990, 13(7):281-285.
- Derrick, M., Luo, N.L., Bregman, J.C., Jilling, T., Ji, X., Fisher, K., Gladson, C.L., Beardsley, D.J., Murdoch, G., Back, S.A., Tan, S. Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: a model for human cerebral palsy? *J Neurosci.* 2004, 24:24-34.
- De Souza, E.B., Battaglia, G., Insel, T.R. Neurotoxic effect of MDMA on brain serotonin neurons: evidence from neurochemical and radioligand binding studies. *Ann N Y Acad Sci.* 1990, 600:682-698.
- Deutch, A.Y. The regulation of subcortical dopamine systems by the prefrontal cortex: interactions of central dopamine systems and the pathogenesis of schizophrenia. *J Neural Transm Suppl.* 1992, 36:61-89.
- Devoto, P., Flore, G., Pani, L., Gessa, G.L. Evidence for co-release of noradrenaline and dopamine from noradrenergic neurons in the cerebral cortex. *Mol Psychiatry.* 2001, 6:657-664.
- De Win, M.M., Reneman, L., Reitsma, J.B., den Heeten, G.J., Booij, J., van den Brink, W. Mood disorders and serotonin transporter density in ecstasy users--the influence of long-term abstinence, dose, and gender. *Psychopharmacol.* 2004, 173(3-4):376-382.
- Di Chiara, G. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res.* 2002, 137(1-2):75-114.
- Di Chiara, G., North, R.A. Neurobiology of opiate abuse. *Trends Pharmacol Sci.* 1992, 13(5):185-193.
- Di Forti, M., Lappin, J.M., Murray, R.M. Risk factors for schizophrenia--all roads lead to dopamine. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2007, 17(2):101-107.
- Ding, Y.S., Fowler, J.S., Volkow, N.D., Dewey, S.L., Wang, G.J., Logan, J., Gatley, S.J., Pappas, N. Chiral drugs: comparison of the pharmacokinetics of [11C]d-threo and L-threo-methylphenidate in the human and baboon brain. *Psychopharmacol.* 1997, 131:71-78.
- Djalali, S., Hölte, M., Grosse, G., Rothe, T., Stroh, T., Grosse, J., Deng, D.R., Hellweg, R., Grantyn, R., Hörtnagl, H., Ahnert-Hilger, G. Effects of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on glial cells and serotonergic neurones during development. *J Neurochem.* 2005, 92(3):616-627.

- Doetsch, F., Caillé, I., Lim, D.A., García-Verdugo, J.M., Alvarez-Buylla, A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*. 1999, 97(6):703-716.
- Domínguez, R., Cruz-Morales, S.E., Carvalho, M.C., Xavier, M., Brandao, M.L. Sex differences in serotonergic activity in dorsal and median raphe nucleus. *Physiol Behav*. 2003, 80(2-3):203-210.
- Dourish, C.T. Multiple serotonin receptors: opportunities for new treatments for obesity? *Obes Res*. 1995, 4:449-462.
- Dow-Edwards, D.L., Weedon, J.C., Hellmann, E. Methylphenidate improves performance on the radial arm maze in periadolescent rats. *Neurotoxicol Teratol*. 2008, 30(5):419-427.
- Draper, E.S., Rankin, J., Tonks, A.M., Abrams, K.R., Field, D.J., Clarke, M., Kurinczuk, J.J. Recreational drug use: a major risk factor for gastroschisis? *Am. J. Epidemiol*. 2008, 167, 485-491.
- Duman, R.S., Monteggia, L.M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry*. 2006, 59(12):1116-1127.
- Dupont, R.L., Coleman, J.J., Bucher, R.H., Wilford, B.B. Characteristics and motives of college students who engage in nonmedical use of methylphenidate. *Am J Addict*. 2008, 17(3):167-171.
- Eaton, M.J., Whittemore, S.R. Autocrine BDNF secretion enhances the survival and serotonergic differentiation of raphe neuronal precursor cells grafted into the adult rat CNS. *Exp Neurol*. 1996, 140(2):105-114.
- Eide, P.K., Hole, K. The role of 5-hydroxytryptamine (5-HT) receptor subtypes and plasticity in the 5-HT systems in the regulation of nociceptive sensitivity. *Cephalalgia*. 1993, 13(2):75-85.
- Eisch, A.J., Barrot, M., Schad, C.A., Self, D.W., Nestler, E.J. Opiates inhibit neurogenesis in the adult rat hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000, 97(13):7579-7584.
- Eison, M.S. Serotonin: a common neurobiologic substrate in anxiety and depression. *J Clin Psychopharmacol*. 1990, 10:26-30.
- Ellenbroek, B.A., Budde, S., Cools, A.R. Prepulse inhibition and latent inhibition: the role of dopamine in the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*. 1996, 75(2):535-542.
- Elsworth, J.D., Roth, R.H. Dopamine synthesis, uptake, metabolism, and receptors: relevance to gene therapy of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 1997, 144:4-9.
- Emborg, M.E., Ma, S.Y., Mufson, E.J., Levey, A.I., Taylor, M.D., Brown, W.D., Holden, J.E., Kordower, J.H.. Age-related declines in nigral neuronal function correlate with motor impairments in rhesus monkeys. *J Comp Neurol*. 1998, 401(2):253-265.
- Erdtmann-Vourliotis, M., Mayer, P., Riechert, U., Höllt, V. Acute injection of drugs with low addictive potential (delta(9)-tetrahydrocannabinol, 3,4-methylenedioxymethamphetamine, lysergic acid diamide) causes a much higher c-fos expression in limbic brain areas than highly addicting drugs (cocaine and morphine). *Brain Res Mol Brain Res*. 1999, 71(2):313-324.
- Erickson, J.D., Eiden, L.E., Hoffman, B.J. Expression cloning of a reserpine-sensitive vesicular monoamine transporter. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992, 89(22):10993-10997.
- Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T., Alborn, A.M., Nordborg, C., Peterson, D.A., Gage, F.H. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med*. 1998, 4(11):1313-1317.
- Esteban, B., O'Shea, E., Camarero, J., Sanchez, V., Green, A.R., Colado, M.I. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine induces monoamine release, but not toxicity, when administered centrally at a concentration occurring following a peripherally injected neurotoxic dose. *Psychopharmacol*. 2001, 154(3):251-260.
- Everitt, B.J., Wolf, M.E. Psychomotor stimulant addiction: a neural systems perspective. *J Neurosci*. 2002, 22(9):3312-3320.
- Faber, K.M., Haring, J.H. Synaptogenesis in the postnatal rat fascia dentata is influenced by 5-HT<sub>1a</sub> receptor activation. *Brain Res Dev Brain Res*. 1999, 114(2):245-252.
- Fairbrother, I.S., Arbuthnott, G.W., Kelly, J.S., Butcher, S.P. In vivo mechanisms underlying dopamine release from rat nigrostriatal terminals: II. Studies using potassium and tyramine. *J Neurochem*. 1990, 54:1844-1851.



- Fallon, J.H., Moore, R.Y. Catecholamine innervation of the basal forebrain. IV. Topography of the dopamine projection to the basal forebrain and neostriatum. *J Comp Neurol*. 1978, 180(3):545-580.
- Fallon, J.K., Kicman, A.T., Henry, J.A., Milligan, P.J., Cowan, D.A., Hutt, A.J. Stereospecific analysis and enantiomeric disposition of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy) in humans. *Clin Chem*. 1999, 45(7):1058-1069.
- Farfel, G.M., Kleven, M.S., Woolverton, W.L., Seiden, L.S., Perry, B.D. Effects of repeated injections of cocaine on catecholamine receptor binding sites, dopamine transporter binding sites and behavior in rhesus monkey. *Brain Res*. 1992, 578(1-2):235-243.
- Faria, R., Magalhães, A., Monteiro, P.R., Gomes-Da-Silva, J., Amélia Tavares, M., Summavielle, T. MDMA in adolescent male rats: decreased serotonin in the amygdala and behavioral effects in the elevated plus-maze test. *Ann N Y Acad Sci*. 2006, 1074:643-649.
- Farré, M., Abanades S., Roset, P.N., Peiró, A.M., Torrens, M., O'Mathúna, B., Segura, M., de la Torre, R. Pharmacological interaction between 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) and paroxetine: pharmacological effects and pharmacokinetics. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007, 323(3):954-962.
- Fei, H., Grygoruk, A., Brooks, E.S., Chen, A., Krantz, D.E. Trafficking of vesicular neurotransmitter transporters. *Traffic*. 2008, 9(9):1425-36.
- Finnegan, K.T., Ricaurte, G.A., Ritchie, L.D., Irwin, I., Peroutka, S.J., Langston, J.W. Orally administered MDMA causes a long-term depletion of serotonin in rat brain. *Brain Res*. 1988, 447:141-144.
- Fischer, C., Hatzidimitriou, G., Wlos, J., Katz, J., Ricaurte, G. Reorganization of ascending 5-HT axon projections in animals previously exposed to the recreational drug (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *J Neurosci*. 1995, 15(8):5476-5485.
- Fischer, H.S., Zernig, G., Schatz, D.S., Humpel, C., Saria, A. MDMA ('ecstasy') enhances basal acetylcholine release in brain slices of the rat striatum. *Eur J Neurosci*. 2000, 12(4):1385-1390.
- Fitzgerald, R.L., Blanke, R.V., Poklis, A. Stereoselective pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in the rat. *Chirality*. 1990, 2(4):241-248.
- Fitzgerald, J.L., Reid, J.J. Effects of methylenedioxymethamphetamine on the release of monoamines from rat brain slices. *Eur J Pharmacol*. 1990, 191(2):217-220.
- Fleckenstein, A.E., Gibb, J.W., Hanson, G.R. Differential effects of stimulants on monoaminergic transporters: pharmacological consequences and implications for neurotoxicity. *Eur J Pharmacol*. 2000, 406:1-13.
- Fone, K.C., Beckett, S.R., Topham, I.A., Swettenham, J., Ball, M., Maddocks, L. Long-term changes in social interaction and reward following repeated MDMA administration to adolescent rats without accompanying serotonergic neurotoxicity. *Psychopharmacol*. 2002, 159(4):437-444.
- Fone, K.C., Nutt, D.J. Stimulants: use and abuse in the treatment of attention deficit hyperactivity disorder. *Curr Opin Pharmacol*. 2005, 5:87-93.
- Fonsart, J., Menet, M.C., Declèves, X., Galons, H., Crété, D., Debray, M., Scherrmann, J.M., Noble, F. Sprague-Dawley rats display metabolism-mediated sex differences in the acute toxicity of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, ecstasy). *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008, 230:117-125.
- Foote, S.L., Morrison, J.H. Postnatal development of laminar innervation patterns by monoaminergic fibers in monkey (*Macaca fascicularis*) primary visual cortex. *J Neurosci*. 1984, 4(11):2667-2680.
- Fornai, F., Lenzi, P., Ferrucci, M., Lazzeri, G., di Poggio, A.B., Natale, G., Busceti, C.L., Biagioni, F., Giusiani, M., Ruggieri, S., Paparelli, A. Occurrence of neuronal inclusions combined with increased nigral expression of alpha-synuclein within dopaminergic neurons following treatment with amphetamine derivatives in mice. *Brain Res Bull*. 2005, 65(5):405-413.
- Fukuda, M., Mikoshiba, K. Expression of synaptotagmin I or II promotes neurite outgrowth in PC12 cells. *Neurosci Lett*. 2000, 295(1-2):33-36.
- Fukui, R., Svenningsson, P., Matsuishi, T., Higashi, H., Nairn, A.C., Greengard, P., Nishi, A. Effect of methylphenidate on dopamine/DARPP signalling in adult, but not young, mice. *J Neurochem*. 2003, 87(6):1391-1401.

- Fumagalli, F., Santero, R., Gennarelli, M., Racagni, G., Riva, M.A. Decreased hippocampal BDNF expression after acute systemic injection of quinpirole. *Neuropharmacol.* 2001, 40(7):954-957.
- Gage, F.H., Kempermann, G., Palmer, T.D., Peterson, D.A., Ray, J. Multipotent progenitor cells in the adult dentate gyrus. *J Neurobiol.* 1998, 36(2):249-266.
- Galineau, L. *Etudes des effets de l'administration chronique de substance psychoactives durant la gestation sur la maturation des systèmes monoaminergiques centraux chez le rat.* Thèse de Sciences. Université de Tours, soutenue le 18 Oct 2004.
- Galineau, L., Belzung, C., Kodas, E., Bodard, S., Guilloteau, D., Chalon, S. Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) exposure induces long-term alterations in the dopaminergic and serotonergic functions in the rat. *Dev Brain Res.* 2005, 154:165-176.
- Gandhi, M., Aweeka, F., Greenblatt, R.M., Blaschke, T.F. Sex differences in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2004, 44:499-523.
- Gardner, E.L. What we have learned about addiction from animal models of drug self-administration. *Am J Addict.* 2000, 9(4):285-313.
- Gariano, R.F., Groves, P.M. Burst firing induced in midbrain dopamine neurons by stimulation of the medial prefrontal and anterior cingulate cortices. *Brain Res.* 1988, 462:194-198.
- Gaspar, P., Cases, O., Maroteaux, L. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics. *Nat Rev Neurosci.* 2003, 4(12):1002-1012.
- Gatley, S.J., Pan, D., Chen, R., Chaturvedi, G., Ding, Y.S. Affinities of methylphenidate derivatives for dopamine, norepinephrine and serotonin transporters. *Life Sci.* 1996, 58(12):231-239.
- Gaytan, O., Ghelani, D., Martin, S., Swann, A., Dafny, N. Dose response characteristics of methylphenidate on different indices of rats' locomotor activity at the beginning of the dark cycle. *Brain Res.* 1996, 727(1-2):13-21.
- Gaytan, O., Nason, R., Alagurusamy, R., Swann, A., Dafny, N. MK-801 blocks the development of sensitization to the locomotor effects of methylphenidate. *Brain Res Bull.* 2000, 51(6):485-492.
- Genovesio, A., Brasted, P.J., Wise, S.P. Representation of future and previous spatial goals by separate neural populations in prefrontal cortex. *J Neurosci.* 2006, 26(27):7305-7316.
- Gerasimov, M.R., Franceschi, M., Volkow, N.D., Gifford, A., Gatley, S.J., Marsteller, D., Molina, P.E., Dewey, S.L. Comparison between intraperitoneal and oral methylphenidate administration: A microdialysis and locomotor activity study. *J Pharmacol Exp Ther.* 2000, 295:51-57.
- Gerfen, C.R. The neostriatal mosaic: multiple levels of compartmental organization. *Trends Neurosci.* 1992, 15(4):133-9.
- Gerfen, C.R., Engber, T.M., Mahan, L.C., Susel, Z., Chase, T.N., Monsma, F.J. Jr, Sibley, D.R. D1 and D2 dopamine receptor-regulated gene expression of striatonigral and striatopallidal neurons. *Science.* 1990, 250:1429-1432.
- Gerra, G., Zaimovic, A., Moi, G., Laviola, G., Macchia, T. MDMA (ecstasy): neuroendocrine and behavioral features. *Ann Ist Super Sanita.* 2002, 38(3):271-277.
- Geyer, M.A., Segal, D.S., Mandell, A.J. Effect of intraventricular infusion of dopamine and norepinephrine on motor activity. *Physiol Behav.* 1972, 8(4):653-8.
- Ghosh, A., Carnahan, J., Greenberg, M.E. Requirement for BDNF in activity-dependent survival of cortical neurons. *Science.* 1994, 263(5153):1618-1623.
- Gilmore, W., Arias, M., Stroud, N., Stek, A., McCarthy, K.A., Correale J. Preliminary studies of cytokine secretion patterns associated with pregnancy in MS patients. *J Neurol Sci.* 2004, 224(1-2):69-76.
- Glick, S.D., Hinds, PA. Sex differences in sensitization to cocaine-induced rotation. *Eur J Pharmacol.* 1984, 99:119-121.
- Goedert, M. Alpha-synuclein and neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurosci.* 2001, 2(7):492-501.
- Gold, L.H., Hubner, C.B., Koob, G.F. A role for the mesolimbic dopamine system in the psychostimulant actions of MDMA. *Psychopharmacology.* 1989, 99:40-47.

- Goldman-Rakic, P.S., Castner, S.A., Svensson, T.H., Siever, L.J., Williams, G.V. Targeting the dopamine D1 receptor in schizophrenia: insights for cognitive dysfunction. *Psychopharmacology*. 2004, 174:3-16.
- Goldstein, M., Deutch, A.Y. Dopaminergic mechanisms in the pathogenesis of schizophrenia. *FASEB J*. 1992, 6(7):2413-2421.
- Goodwin, G.A., Rajachandran, L., Moody, C.A., Francis, R., Kuhn, C.M., Spear, L.P. Effects of prenatal cocaine exposure on haloperidol-induced increases in prolactin release and dopamine turnover in weanling, periadolescent, and adult offspring. *Neurotoxicol Teratol*. 1995, 17(4):507-514.
- Gordon, C.J., Fogelson, L. Metabolic and thermoregulatory responses of the rat maintained in acrylic or wire-screen cages: implications for pharmacological studies. *Physiol Behav*. 1994, 56:73-79.
- Gough, B., Ali, S.F., Slikker, W. Jr, Holson, R.R. Acute effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on monoamines in rat caudate. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991, 39(3):619-623.
- Gould, E., Woolley, C.S., Frankfurt, M., McEwen, B.S. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci*. 1990, 10(4):1286-1291.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Daumann, J. The confounding problem of polydrug in recreational ecstasy/MDMA users: a brief overview. *J Psychopharmacol*. 2006, 20:188-193.
- Gouzoulis-Mayfrank, E., Thimm, B., Rezk, M., Hensen, G., Daumann, J. Memory impairment suggests hippocampal dysfunction in abstinent ecstasy users. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2003, 27(5):819-827.
- Grace, A.A., Bunney, B.S. The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: burst firing. *J Neurosci*. 1984, 4(11):2877-2890.
- Grant, R.T. Vasodilation and body warming in the rat. *J Physiol*. 1963, 167:311-317.
- Gray, J.D., Punsoni, M., Tabori, N.E., Melton, J.T., Fanslow, V., Ward, M.J., Zupan, B., Menzer, D., Rice, J., Drake, C.T., Romeo, R.D., Brake, W.G., Torres-Reveron, A., Milner, T.A. Methylphenidate administration to juvenile rats alters brain areas involved in cognition, motivated behaviors, appetite, and stress. *J Neurosci*. 2007, 27(27):7196-7207.
- Green, A.R., O'shea, E., Colado, M.I. A review of the mechanisms involved in the acute MDMA (ecstasy)-induced hyperthermic response. *Eur J Pharmacol*. 2004, 500:3-13.
- Green, A.R., Mehan, A.O., Elliot, J.M., O'Shea, E., Colado, M.I. The pharmacology and clinical pharmacology of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA or "Ecstasy"). *Pharmacol. Rev*. 2003, 55:463-508.
- Greenhill, L.L. Pharmacologic treatment of attention deficit hyperactivity disorder. *Psychiatr Clin North Am*. 1992, 15:1-27.
- Grenhoff, J., North, R.A., Johnson, S.W. Alpha 1-adrenergic effects on dopamine neurons recorded intracellularly in the rat midbrain slice. *Eur J Neurosci*. 1995, 7:1707-1713.
- Greydanus, D.E., Pratt, H.D., Patel, D.R. Attention deficit hyperactivity disorder across the lifespan: the child, adolescent, and adult. *Dis Mon*. 2007, 53(2):70-131.
- Grund, T., Teuchert-Noodt, G., Busche, A., Neddens, J., Brummelte, S., Moll, G.H., Dawirs, R.R. Administration of oral methylphenidate during adolescence prevents suppressive development of dopamine projections into prefrontal cortex and amygdala after an early pharmacological challenge in gerbils. *Brain Res*. 2007, 1176:124-32.
- Gu, X.F., Azmitia, E.C. Integrative transporter-mediated release from cytoplasmic and vesicular 5-hydroxytryptamine stores in cultured neurons. *Eur J Pharmacol*. 1993, 235:51-57.
- Gudelsky, G.A., Nash, J.F. Carrier-mediated release of serotonin by 3,4-methylenedioxymethamphetamine: implications for serotonin-dopamine interactions. *J Neurochem*. 1996, 66:243-249.
- Gudelsky, G.A., Yamamoto, B.K. Actions of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on cerebral dopaminergic, serotonergic and cholinergic neurons. *Pharmacol Biochem Behav*. 2008, 90(2):198-207.
- Gudelsky, G.A., Yamamoto, B.K., Nash, J.F. Potentiation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release and serotonin neurotoxicity by 5-HT<sub>2</sub> receptor agonists. *Eur J Pharmacol*. 1994, 264(3):325-330.

- Guillin, O., Abi-Dargham, A., Laruelle, M. Neurobiology of dopamine in schizophrenia. *Int Rev Neurobiol.* 2007, 78:1-39.
- Guillot, T.S., Shepherd, K.R., Richardson, J.R., Wang, M.Z., Li Y., Emson, P.C., Miller, G.W. Reduced vesicular storage of dopamine exacerbates methamphetamine-induced neurodegeneration and astrogliosis. *J Neurochem.* 2008, 106(5):2205-2217.
- Gurtman, C.G., Morley, K.C., Li, K.M., Hunt, G.E., McGregor, I.S. Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethamphetamine: association with serotonin depletion. *Eur. J. Pharmacol.* 2002, 446:89-96.
- Hajnal, A., Norgren, R. Accumbens dopamine mechanisms in sucrose intake. *Brain Res.* 2001, 904:76-84.
- Han, D.D., Gu, H.H. Comparison of the monoamine transporters from human and mouse in their sensitivities to psychostimulant drugs. *BMC Pharmacol.* 2006, 3:6:6.
- Hansen, J.P., Riddle, E.L., Sandoval, V., Brown, J.M., Gibb, J.W., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E. Methylenedioxymethamphetamine decreases plasmalemmal and vesicular dopamine transport: mechanisms and implications for neurotoxicity. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002, 300(3):1093-1100.
- Harris, R.Z., Benet, L.Z., Schwartz, J.B. Gender effects in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Drugs.* 1995, 50(2):222-239.
- Harrison, P.J., Weinberger, D.R. Schizophrenia genes, gene expression, and neuropathology: on the matter of their convergence. *Mol Psychiatry.* 2005, 10:40-68.
- Hedner, J., Lundell, K.H., Breese, G.R., Mueller, R.A., Hedner, T. Developmental variations in CSF monoamine metabolites during childhood. *Biol Neonate.* 1986, 49(4):190-197.
- Heindel, J.J. Role of exposure to environmental chemicals in the developmental basis of reproductive disease and dysfunction. *Semin Reprod Med.* 2006, 24(3):168-177.
- Hekmatpanah, C.R., Peroutka, S.J. 5-hydroxytryptamine uptake blockers attenuate the 5-hydroxytryptamine-releasing effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and related agents. *Eur J Pharmacol.* 1990, 177(1-2):95-98.
- Hellendall, R.P., Schambra, U.B., Liu, J.P., Lauder, J.M. Prenatal expression of 5-HT1C and 5-HT2 receptors in the rat central nervous system. *Exp Neurol.* 1993, 120(2):186-201.
- Hemby, S.E., Jones, G.H., Neill, D.B., Justice, J.B. Jr. 6-Hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex fail to influence cocaine-induced place conditioning. *Behav Brain Res.* 1992, 49:225-230.
- Henderson, R.G., Brown, A.E., Tobet, S.A. Sex differences in cell migration in the preoptic area/anterior hypothalamus of mice. *J Neurobiol.* 1999, 41(2):252-266.
- Henry, J.A. Ecstasy and serotonin depletion. *Lancet.* 1996, 347(9004):833.
- Herlenius, E., Lagercrantz, H. Neurotransmitters and neuromodulators during early human development. *Early Hum Dev.* 2001, 65:21-37.
- Hernández-Rabaza, V., Domínguez-Escribà, L., Barcia, J.A., Rosel, J.F., Romero, F.J., García-Verdugo, J.M., Canales, J.J. Binge administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy") impairs the survival of neural precursors in adult rat dentate gyrus. *Neuropharmacology.* 2006, 51(5):967-73.
- Hervé, D., Pickel, V.M., Joh, T.H., Beaudet, A. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain Res.* 1987, 435:71-83.
- Hiramatsu, M., Cho, A.K. Enantiomeric differences in the effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on extracellular monoamines and metabolites in the striatum of freely-moving rats: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacol.* 1990, 29(3):269-275.
- Hiramatsu, M., Kumagai, Y., Unger, S.E., Cho, A.K. Metabolism of methylenedioxymethamphetamine: formation of dihydroxymethamphetamine and a quinone identified as its glutathione adduct. *J Pharmacol Exp Ther.* 1990, 254(2):521-527.
- Hitchcott, P.K., Quinn, J.J., Taylor, J.R. Bidirectional modulation of goal-directed actions by prefrontal cortical dopamine. *Cereb Cortex.* 2007, 17(12):2820-2827.

- Hitri, A., Hurd, Y.L., Wyatt, R.J., Deutsch, S.I. Molecular, functional and biochemical characteristics of the dopamine transporter: regional differences and clinical relevance. *Clin Neuropharmacol.* 1994, 17:1-22.
- Ho, E., Karimi-Tebesh, L., Koren, G. Characteristics of pregnant women who use ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine). *Neurotoxicol Teratol.* 2001, 23:561- 567.
- Ho, Y.J., Pawlak, C.R., Guo, L., Schwarting, R.K. Acute and long-term consequences of single MDMA administration in relation to individual anxiety levels in the rat. *Behav Brain Res.* 2004, 149(2):135-144.
- Hoffman, H.S., Ison, J.R. Reflex modification in the domain of startle: I. Some empirical findings and their implications for how the nervous system processes sensory input. *Psychol Rev.* 1980, 87(2):175-189.
- Hollerman, J.R., Tremblay, L., Schultz, W. Influence of reward expectation on behavior-related neuronal activity in primate striatum. *J Neurophysiol.* 1998, 80(2):947-963.
- Hoshi, R., Pratt, H., Mehta, S., Bond, A.J., Curran, H.V. An investigation into the sub-acute effects of ecstasy on aggressive interpretative bias and aggressive mood - are there gender differences? *J Psychopharmacol.* 2006, 20(2):291-301.
- Howells, D.W., Porritt, M.J., Wong, J.Y., Batchelor, P.E., Kalnins, R., Hughes, A.J., Donnan, G.A. Reduced BDNF mRNA expression in the Parkinson's disease substantia nigra. *Exp Neurol.* 2000, 166:127-135.
- Hu, Z., Cooper, M., Crockett, D.P., Zhou, R. Differentiation of the midbrain dopaminergic pathways during mouse development. *J Comp Neurol.* 2004, 476:301-311.
- Huang, E.J., Reichardt, L.F. Neurotrophins: roles in neuronal development and function. *Annu Rev Neurosci.* 2001, 24:677-736.
- Hutchison, J.B. Gender-specific steroid metabolism in neural differentiation. *Cell Mol Neurobiol.* 1997, 17(6):603-26.
- Huttenlocher, P.R. Morphometric study of human cerebral cortex development. *Neuropsychologia.* 1990, 28(6):517-527.
- Huttenlocher, P.R., Dabholkar, A.S. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 1997, 387(2):167-178.
- Hyman, C., Hofer, M., Barde, Y.A., Juhasz, M., Yancopoulos, G.D., Squinto, S.P., Lindsay, R.M. BDNF is a neurotrophic factor for dopaminergic neurons of the substantia nigra. *Nature.* 1991, 350(6315):230-232.
- Hyman, C., Juhasz, M., Jackson, C., Wright, P., Ip, N.Y., Lindsay, R.M. Overlapping and distinct actions of the neurotrophins BDNF, NT-3, and NT-4/5 on cultured dopaminergic and GABAergic neurons of the ventral mesencephalon. *J Neurosci.* 1994, 14:335-347.
- Hyman, S.E., Malenka, R.C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci.* 2001, 2(10):695-703.
- Ibata, K., Fukuda, M., Hamada, T., Kabayama, H., Mikoshiba, K. Synaptotagmin IV is present at the Golgi and distal parts of neurites. *J Neurochem.* 2000, 74(2):518-526.
- Ivy, A.S., Rodriguez, F.G., Garcia, C., Chen, M.J., Russo-Neustadt, A.A. Noradrenergic and serotonergic blockade inhibits BDNF mRNA activation following exercise and antidepressant. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003, 75:81-88.
- Izenwasser, S., Coy, A.E., Ladenheim, B., Loeloff, R.J., Cadet, J.L., French, D. Chronic methylphenidate alters locomotor activity and dopamine transporters differently from cocaine. *Eur J Pharmacol.* 1999, 373(2-3):187-193.
- Jarskog, L.F., Miyamoto, S., Lieberman, J.A. Schizophrenia: new pathological insights and therapies. *Annu Rev Med.* 2007, 58:49-61.
- Jarskog, L.F., Xiao, H., Wilkie, M.B., Lauder, J.M., Gilmore J.H. Cytokine regulation of embryonic rat dopamine and serotonin neuronal survival in vitro. *Int J Dev Neurosci.* 1997, 15(6):711-716.

- Jayanthi, S., Ladenheim, B., Andrews, A.M., Cadet, J.L. Overexpression of human copper/zinc superoxide dismutase in transgenic mice attenuates oxidative stress caused by methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy). *Neuroscience*. 1999, 91(4):1379-1387.
- Johnson, M.P., Conarty, P.F., Nichols, D.E. [3H]monoamine releasing and uptake inhibition properties of 3,4-methylenedioxymethamphetamine and p-chloroamphetamine analogues. *Eur J Pharmacol*. 1991, 200:9-16.
- Johnson, M.P., Hoffman, A.J., Nichols, D.E. Effects of the enantiomers of MDA, MDMA and related analogues on [3H]serotonin and [3H]dopamine release from superfused rat brain slices. *Eur J Pharmacol*. 1986, 132(2-3):269-276.
- Johnson, M., Mitros, K., Stone, D.M., Zobrist, R., Hanson, G.R., Gibb, J.W. Effect of flunarizine and nimodipine on the decrease in tryptophan hydroxylase activity induced by methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992, 261(2):586-591.
- Johnson, E.A., O'Callaghan, J.P., Miller, D.B. Chronic treatment with supraphysiological levels of corticosterone enhances D-MDMA-induced dopaminergic neurotoxicity in the C57BL/6J female mouse. *Brain Res*. 2002, 933(2):130-138.
- Johnston, L.D., O'Malley, P.M., Bachman, J.G., Schulenberg, J.E. *Monitoring the future: National results on adolescent drug abuse: Overview of key findings, 2006*. Bethesda, MD: National Institute on drug abuse, 2007, NIH Publication Number 07-6202.
- Jones, L., Fischer, I., Levitt, P. Nonuniform alteration of dendritic development in the cerebral cortex following prenatal cocaine exposure. *Cereb Cortex*. 1996, 6(3):431-445.
- Kalant, H. The pharmacology and toxicology of "ecstasy" (MDMA) and related drugs. *CMAJ*. 2001, 165(7):917-928.
- Kalivas, P.W., Duffy, P. Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse*. 1990, 5:48-58.
- Kalivas, P.W., Duffy, P. A comparison of axonal and somatodendritic dopamine release using in vivo dialysis. *J Neurochem*. 1991, 56(3):961-967.
- Pierce, R.C., Kalivas, P.W. Repeated cocaine modifies the mechanism by which amphetamine releases dopamine. *J Neurosci*. 1997, 17(9):3254-3261.
- Kalivas, P.W., Striplin, C.D., Steketee, J.D., Klitenick, M.A., Duffy, P. Cellular mechanisms of behavioral sensitization to drugs of abuse. *Ann N Y Acad Sci*. 1992, 654:128-135.
- Kalsbeek, A., Voorn, P., Buijs, R.M., Pool, C.W., Uylings, H.B. Development of the dopaminergic innervation in the prefrontal cortex of the rat. *J Comp Neurol*. 1988, 269:58-72.
- Kankaanpää, A., Meririnne, E., Seppälä, T. 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist MDL 72222 attenuates cocaine- and mazindol-, but not methylphenidate-induced neurochemical and behavioral effects in the rat. *Psychopharmacol*. 2002, 159(4):341-350.
- Kapur, S. Psychosis as a state of aberrant salience: a framework linking biology, phenomenology, and pharmacology in schizophrenia. *Am J Psychiatry*. 2003, 160:13-23.
- Kapur, S. How antipsychotics become anti-"psychotic"--from dopamine to salience to psychosis. *Trends Pharmacol Sci*. 2004, 25(8):402-406.
- Keller, R.W. Jr, Johnson, K.S., Snyder-Keller, A.M., Carlson, J.N., Glick, S.D. Effects of prenatal cocaine exposure on the mesocorticolimbic dopamine system: an in vivo microdialysis study in the rat. *Brain Res*. 1996, 742(1-2):71-79.
- Keller, R.W. Jr, Maisonneuve, I.M., Nuccio, D.M., Carlson, J.N., Glick, S.D. Effects of prenatal cocaine exposure on the nigrostriatal dopamine system: an in vivo microdialysis study in the rat. *Brain Res*. 1994, 634(2):266-274.
- Kelley, A.E., Berridge, K.C. The neuroscience of natural rewards: relevance to addictive drugs. *J Neurosci*. 2002, 22(9):3306-3311.

- Kelly, P.A.T., Ritchie, I.M., Quate, L., McBean, D.E., Olverman, H.J. Functional consequences of perinatal exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rat brain. *British J Pharmacol.* 2002, 137:963-970.
- Kelz, M.B., Nestler, E.J. deltaFosB: a molecular switch underlying long-term neural plasticity. *Curr Opin Neurol.* 2000, 13(6):715-720.
- Kim, J.A., Gillespie, R.A., Druse, M.J. Effects of maternal ethanol consumption and buspirone treatment on 5-HT1A and 5-HT2A receptors in offspring. *Alcohol Clin Exp Res.* 1997, 21(7):1169-1178.
- Kleven, M.S., Perry, B.D., Woolverton, W.L., Seiden, L.S. Effects of repeated injections of cocaine on D1 and D2 dopamine receptors in rat brain. *Brain Res.* 1990, 532(1-2):265-270.
- Knoll, J.G., Wolfe, C.A., Tobet, S.A. Estrogen modulates neuronal movements within the developing preoptic area-anterior hypothalamus. *Eur J Neurosci.* 2007, 26(5):1091-1099.
- Kobeissy, F.H., Jeung, J.A., Warren, M.W., Geier, J.E., Gold, M.S. Change in leptin, ghrelin, growth hormone and neuropeptide-Y after an acute model of MDMA and methamphetamine exposure in rats. *Addict Biol.* 2008, 13:15-25.
- Koch, S., Galloway, M.P. MDMA induced dopamine release in vivo: role of endogenous serotonin. *J Neural Transm.* 1997, 104(2-3):135-146.
- Kodas, E., Vancassel, S., Lejeune, B., Guilloteau, D., Chalon, S. Reversibility of n-3 PUFA diet deficiency-induced alterations of dopaminergic neurotransmission : critical role of developmental stage. *J. Lipid Res.* 2002, 43:1209-1219.
- Koenig, J., Lazarus, C., Jeltsch, H., Ben Hamida, S., Riegert, C., Kelche, C., Jones, B.C., Cassel, J.C. MDMA (ecstasy) effects in pubescent rats: Males are more sensitive than females. *Pharmacol Biochem Behav.* 2005, 81(3):635-644.
- Kohl, R.R., Katner, J.S., Chernet, E., McBride, W.J. Ethanol and negative feedback regulation of mesolimbic dopamine release in rats. *Psychopharmacology.* 1998, 139(1-2):79-85.
- Kollins, S.H., MacDonald, E.K., Rush, C.R. Assessing the abuse potential of methylphenidate in nonhuman and human subjects: a review. *Pharmacol Biochem Behav.* 2001, 68(3):611-627.
- Kondoh, M., Shiga, T., Okado, N. Regulation of dendrite formation of Purkinje cells by serotonin through serotonin1A and serotonin2A receptors in culture. *Neurosci Res.* 2004, 48:101-109.
- Koob, G.F. Neural mechanisms of drug reinforcement. *Ann N Y Acad Sci.* 1992, 654:171-191.
- Koob, G.F., Le, H.T., Creese, I. The D1 dopamine receptor antagonist SCH 23390 increases cocaine self-administration in the rat. *Neurosci Lett.* 1987, 79(3):315-320.
- Koponen, E., Rantamäki, T., Voikar, V., Saarelainen, T., MacDonald, E., Castrén, E. Enhanced BDNF signaling is associated with an antidepressant-like behavioral response and changes in brain monoamines. *Cell Mol Neurobiol.* 2005, 25(6):973-80.
- Koprich, J.B., Campbell, N.G., Lipton, J.W. Neonatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters dopamine and serotonin neurochemistry and increases brain-derived neurotrophic factor in the forebrain and brainstem of the rat. *Dev. Brain Res.* 2003, 147:177-182.
- Koprich, J.B., Chen, E.Y., Kanaan, N.M., Campbell, N.G., Kordower, J.H., Lipton, J.W. Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters exploratory behaviour, reduces monoamine metabolism, and increase forebrain tyrosine hydroxylase fiber density of juvenile rats. *Neurotoxicol. Teratol.* 2003, 25:509-517.
- Kosofsky, B.E., Molliver, M.E. The serotonergic innervation of cerebral cortex: different classes of axon terminals arise from dorsal and median raphe nuclei. *Synapse.* 1987, 1(2):153-168.
- Kosten, T.A., Gawin, F.H., Kosten, T.R., Rounsaville, B.J. Gender differences in cocaine use and treatment response. *J Subst Abuse Treat.* 1993, 10:63-66.
- Kostovic, I., Rakic, P. Developmental history of the transient subplate zone in the visual and somatosensory cortex of the macaque monkey and human brain. *J Comp Neurol.* 1990, 297(3):441-470.
- Kriegstein, K., Maysinger, D., Unsicker, K. The survival response of mesencephalic dopaminergic neurons to the neurotrophins BDNF and NT-4 requires priming with serum: comparison with members of the

- TGF-beta superfamily and characterization of the serum-free culture system. *J Neural Transm Suppl.* 1996, 47:247-258.
- Kuczenski, R., Segal, D.S. Stimulant actions in rodents: implications for attention-deficit/hyperactivity disorder treatment and potential substance abuse. *Biol Psychiatry.* 2005, 57(11):1391-1396.
- Kuczenski R., Segal D.S. Locomotor effects of acute and repeated threshold doses of amphetamine and methylphenidate: relative roles of dopamine and norepinephrine. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001, 296(3):876-883.
- Kuczenski, R., Segal, D.S. Effects of methylphenidate on extracellular dopamine, serotonin, and norepinephrine: comparison with amphetamine. *J Neurochem.* 1997, 68(5):2032-2037.
- Külz, A.K., Meinzer, S., Kopasz, M., Voderholzer, U. Effects of tryptophan depletion on cognitive functioning, obsessive-compulsive symptoms and mood in obsessive-compulsive disorder: preliminary results. *Neuropsychobiol.* 2007, 56(2-3):127-131.
- Lagace, D.C., Yee, J.K., Bolaños, C.A., Eisch, A.J. Juvenile administration of methylphenidate attenuates adult hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry.* 2006, 60(10):1121-1130.
- Lambert, N.M., Hartsough, C.S. Prospective study of tobacco smoking and substance dependencies among samples of ADHD and non-ADHD participants. *J Learn Disabil.* 1998, 31(6):533-544.
- Lammel, S., Hetzel, A., Häckel, O., Jones, I., Liss, B., Roeper, J. Unique properties of mesoprefrontal neurons within a dual mesocorticolimbic dopamine system. *Neuron.* 2008, 57:760-773.
- Laruelle, M., Abi-Dargham, A., Gil, R., Kegeles L., Innis, R. Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. *Biol Psychiatry.* 1999, 46:56-72.
- Lauder, J.M. Neurotransmitters as growth regulatory signals: role of receptors and second messengers. *Trend Neurosci.* 1993, 16:233-240.
- Lauder, J.M., Bloom, F.E. Ontogeny of monoamine neurons in the locus coeruleus, Raphe nuclei and substantia nigra of the rat. I. Cell differentiation. *J Comp Neurol.* 1974, 155(4):469-481.
- Lauder, J.M., Krebs, H. Effects of p-chlorophenylalanine on time of neuronal origin during embryogenesis in the rat. *Brain Res.* 1976, 107(3):638-644.
- Lauder, J.M., Wallace, J.A., Krebs, H. Roles for serotonin in neuroembryogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 1981, 133:477-506.
- Le, W., Conneely, O.M., He, Y., Jankovic, J., Appel, S.H. Reduced Nurr1 expression increases the vulnerability of mesencephalic dopamine neurons to MPTP-induced injury. *J Neurochem.* 1999, 73(5):2218-2221.
- Lebrand, C., Cases, O., Adelbrecht, C., Doye, A., Alvarez, C., El Mestikawy, S., Seif, I., Gaspar, P. Transient uptake and storage of serotonin in developing thalamic neurons. *Neuron.* 1996, 17(5):823-835.
- Lee, S.J., Jeon, H., Kandror, K.V. Alpha-synuclein is localized in a subpopulation of rat brain synaptic vesicles. *Acta Neurobiol Exp (Wars).* 2008, 68(4):509-515.
- Le Moine, C., Bloch, B. Rat striatal and mesencephalic neurons contain the long isoform of the D2 dopamine receptor mRNA. *Brain Res Mol Brain Res.* 1991, 10(4):283-289.
- Le Moine, C., Normand, E., Guitteny, A.F., Fouque, B., Teoule, R., Bloch, B. Dopamine receptor gene expression by enkephalin neurons in rat forebrain. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990, 87:230-234.
- Leonardi, E.T., Azmitia, E.C. MDMA (ecstasy) inhibition of MAO type A and type B: comparisons with fenfluramine and fluoxetine (Prozac). *Neuropsychopharmacol.* 1994, 10(4):231-238.
- Lester, B.M., Tronick, E.Z., LaGasse, L., Seifer, R., Bauer, C.R., Shankaran, S., Bada, H.S., Wright, L.L., Smeriglio, V.L., Lu, J., Finnegan, L.P., Maza, P.L. The maternal lifestyle study: effects of substance exposure during pregnancy on neurodevelopmental outcome in 1-month-old infants. *Pediatrics.* 2002, 110(6):1182-1192.
- Levallois, C., Valence, C., Baldet, P., Privat, A. Morphological and morphometric analysis of serotonin-containing neurons in primary dissociated cultures of human rhombencephalon: a study of development. *Brain Res Dev Brain Res.* 1997, 99(2):243-252.



- Levine, T.P., Liu, J., Das, A., Lester, B., Lagasse, L., Shankaran, S., Bada, H.S., Bauer, C.R., Higgins, R. Effects of prenatal cocaine exposure on special education in school-aged children. *Pediatrics*. 2008, 122:83-91.
- Levitt, P., Harvey, J.A., Friedman, E., Simansky, K., Murphy, E.H. New evidence for neurotransmitter influences on brain development. *Trends Neurosci*. 1997, 20:269-274.
- Levitt, P., Moore, R.Y. Noradrenaline neuron innervation of the neocortex in the rat. *Brain Res*. 1978, 139(2):219-231.
- Levitt, P., Rakic, P. The time of genesis, embryonic origin and differentiation of the brain stem monoamine neurons in the rhesus monkey. *Brain Res*. 1982, 256:35-57.
- Lew, R., Sabol, K.E., Chou, C., Vosmer, G.L., Richards, J., Seiden, L.S. Methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin deficits are followed by partial recovery over a 52-week period. Part II: Radioligand binding and autoradiography studies. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996, 276(2):855-865.
- Lewin, G.R., Barde, Y.A. Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci*. 1996, 19:289-317.
- Lewis, D.A., Akil, M. Cortical dopamine in schizophrenia: strategies for postmortem studies. *J Psychiatr Res*. 1997, 31(2):175-195.
- Liechti, M.E., Gamma, A., Vollenweider, F.X. Gender differences in the subjective effects of MDMA. *Psychopharmacol*. 2001, 154:161-168.
- Lim, H.K., Foltz R.L. In vivo and in vitro metabolism of 3,4-(methylenedioxy)methamphetamine in the rat: identification of metabolites using an ion trap detector. *Chem Res Toxicol*. 1988, 1(6):370-378.
- Lin, J.S., Hou, Y., Jouvett, M. Potential brain neuronal targets for amphetamine-, methylphenidate-, and modafinil-induced wakefulness, evidenced by c-fos immunocytochemistry in the cat. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996, 93(24):14128-14133.
- Lindsay, R.M., Altar, C.A., Cedarbaum, J.M., Hyman, C., Wiegand, S.J. The therapeutic potential of neurotrophic factors in the treatment of Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 1993, 124:103-118.
- Lindvall, O., Björklund, A. The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta Physiol Scand*. 1974, 412:1-48.
- Lipton, J.W., Tolod, E.G., Thompson, V.B., Pei, L., Paumier, K.L., Terpstra, B.T., Lynch, K.A., Collier, T.J., Sortwell, C.E. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) promotes the survival of fetal dopamine neurons in culture. *Neuropharmacol*. 2008, 55(5):851-859.
- Liu, S., Ninan, I., Antonova, I., Battaglia, F., Trinchese, F., Narasanna, A., Kolodilov, N., Dauer, W., Hawkins, R.D., Arancio, O. alpha-Synuclein produces a long-lasting increase in neurotransmitter release. *EMBO J*. 2004, 23(22):4506-4516.
- Llinás, R., McGuinness, T.L., Leonard, C.S., Sugimori, M., Greengard, P. Intraterminal injection of synapsin I or calcium/calmodulin-dependent protein kinase II alters neurotransmitter release at the squid giant synapse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1985, 82(9):3035-3039.
- Lloyd, S.A., Faherty, C.J., Smeyne R.J. Adult and in utero exposure to cocaine alters sensitivity to the Parkinsonian toxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine. *Neuroscience*. 2006, 137(3):905-913.
- Lu, B. Pro-region of neurotrophins: role in synaptic modulation. *Neuron*. 2003, 39(5):735-738.
- Lu, X.Y., Churchill, L., Kalivas, P.W. Expression of D1 receptor mRNA in projections from the forebrain to the ventral tegmental area. *Synapse*. 1997, 25(2):205-214.
- Lu, J., Wu, Y., Sousa, N., Almeida, O.F. SMAD pathway mediation of BDNF and TGF beta 2 regulation of proliferation and differentiation of hippocampal granule neurons. *Development*. 2005, 132(14):3231-3242.
- Luellen, B.A., Bianco, L.E., Schneider, L.M., Andrews, A.M. Reduced brain-derived neurotrophic factor is associated with a loss of serotonergic innervation in the hippocampus of aging mice. *Genes Brain Behav*. 2007, 6(5):482-490.
- Luo, L., O'Leary, D.D. Axon retraction and degeneration in development and disease. *Annu Rev Neurosci*. 2005, 28:127-156.

- Mague, S.D., Andersen, S.L., Carlezon, W.A. Jr. Early developmental exposure to methylphenidate reduces cocaine-induced potentiation of brain stimulation reward in rats. *Biol Psychiatry*. 2005, 15;57(2):120-125.
- Malberg, J.E., Seiden, L.S. Small changes in ambient temperature cause large changes in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-induced serotonin neurotoxicity and core body temperature in the rat. *J Neurosci*. 1998, 18:5086-5094.
- Mann, H., Ladenheim, B., Hirata, H., Moran, T.H., Cadet, J.L. Differential toxic effects of methamphetamine (METH) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in multidrug-resistant (mdr1a) knockout mice. *Brain Res*. 1997, 769(2):340-346.
- Mannuzza, S., Klein, R.G. Moulton JL 3rd. Does stimulant treatment place children at risk for adult substance abuse? A controlled, prospective follow-up study. *J Child Adolesc Psychopharmacol*. 2003, 13(3):273-282.
- Marinelli, M., White, F.J. Enhanced vulnerability to cocaine self-administration is associated with elevated impulse activity of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci*. 2000, 20(23):8876-8885.
- Marston, H.M., Reid, M.E., Lawrence, J.A., Olverman, H.J., Butcher, S.P. Behavioural analysis of the acute and chronic effects of MDMA treatment in the rat. *Psychopharmacol*. 1999, 144:67-76.
- Martin-Iverson, M.T., Todd, K.G., Altar, C.A. Brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 activate striatal dopamine and serotonin metabolism and related behaviors: interactions with amphetamine. *J Neurosci*. 1994, 14:1262-1270.
- Martínez-Turrillas, R., Moyano, S., Del Río, J., Frechilla, D. Differential effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy") on BDNF mRNA expression in rat frontal cortex and hippocampus. *Neurosci Lett*. 2006, 402(1-2):126-130.
- Martinowich, K., Lu, B. Interaction between BDNF and serotonin: role in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*. 2008, 33:73-83.
- Maurer, H.H., Kraemer, T., Springer, D., Staack, R.F. Chemistry, pharmacology, toxicology, and hepatic metabolism of designer drugs of the amphetamine (ecstasy), piperazine, and pyrrolidinophenone types: a synopsis. *Ther Drug Monit*. 2004, 26(2):127-131.
- Mas, M., Farré, M., de la Torre, R., Roset, P.N., Ortuño, J., Segura, J., Camí, J. Cardiovascular and neuroendocrine effects and pharmacokinetics of 3, 4-methylenedioxymethamphetamine in humans. *J Pharmacol Exp Ther*. 1999, 290:136-145.
- Masserano, J.M., Baker, I., Natsukari, N., Wyatt, R.J. Chronic cocaine administration increases tyrosine hydroxylase activity in the ventral tegmental area through glutaminergic- and dopaminergic D2-receptor mechanisms. *Neurosci Lett*. 1996, 18;217(2-3):73-76.
- Mattson, M.P., Maudsley, S., Martin, B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci*. 2004, 27(10):589-594.
- Mayes, R., Bagwell, C., Erkulwater, J. ADHD and the rise in stimulant use among children. *Harv Rev Psychiatry*. 2008, 16(3):151-166.
- Mazer, C., Muneyyirci, J., Taheny, K., Raio, N., Borella, A., Whitaker-Azmitia, P. Serotonin depletion during synaptogenesis leads to decreased synaptic density and learning deficits in the adult rat: a possible model of neurodevelopmental disorders with cognitive deficits. *Brain Res*. 1997, 760(1-2):68-73.
- McAllister, A.K. Subplate neurons: a missing link among neurotrophins, activity, and ocular dominance plasticity? *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999, 96(24):13600-13602.
- McCann, U.D., Ridenour, A., Shaham, Y., Ricaurte, G.A. Serotonin neurotoxicity after (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA; "Ecstasy"): a controlled study in humans. *Neuropsychopharmacol*. 1994, 10(2):129-381.
- McCann, U.D., Szabo, Z., Scheffel, U., Dannals, R.F., Ricaurte, G.A. Positron emission tomographic evidence of toxic effect of MDMA ("Ecstasy") on brain serotonin neurons in human beings. *Lancet*. 1998, 352(9138):1433-1437.
- McCardle, K., Luebbers, S., Carter, J.D., Croft, R.J., Stough, C. Chronic MDMA (ecstasy) use, cognition and mood. *Psychopharmacol*. 2004, 173(3-4):434-439.

- McClung, C.A., Ulery, P.G., Perrotti, L.I., Zachariou, V., Berton, O., Nestler, E.J. DeltaFosB: a molecular switch for long-term adaptation in the brain. *Brain Res Mol Brain Res*. 2004, 132(2):146-154.
- McCormack, A.L., Di Monte, D.A., Delfani, K., Irwin, I., DeLanney, L.E., Langston, W.J., Janson, A.M. Aging of the nigrostriatal system in the squirrel monkey. *J Comp Neurol*. 2004, 471(4):387-395.
- McDonald, C., Murray, R.M. Early and late environmental risk factors for schizophrenia. *Brain Res Brain Res Rev*. 2000, 31(2-3):130-137.
- McElhatton, P.R., Bateman, D.N., Evans, C., Pughe, K.R., Thomas, S.H. Congenital anomalies after prenatal ecstasy exposure. *Lancet*. 1999, 354:1441-1442.
- McFadyen, M.P., Brown, R.E., Carrey, N. Subchronic methylphenidate administration has no effect on locomotion, emotional behavior, or water maze learning in prepubertal mice. *Dev Psychobiol*. 2002, 41(2):123-132.
- McFadyen-Leussis, M.P., Lewis, S.P., Bond, T.L., Carrey, N., Brown, R.E. Prenatal exposure to methylphenidate hydrochloride decreases anxiety and increases exploration in mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2004, 77(3):491-500.
- McGregor, I.S., Clemens, K.J., Van der Plasse, G., Li, K.M., Hunt, G.E., Chen, F., Lawrence, A.J. Increased anxiety 3 months after brief exposure to MDMA ("Ecstasy") in rats: association with altered 5-HT transporter and receptor density. *Neuropsychopharmacol*. 2003, 28(8):1472-1484.
- McGuire, P.K., Cope, H., Fahy, T.A. Diversity of psychopathology associated with use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ('Ecstasy'). *Br J Psychiatry*. 1994, 165(3):391-395.
- McKenna, D.J., Peroutka, S.J. Neurochemistry and neurotoxicity of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, "ecstasy"). *J Neurochem*. 1990, 54:14-22.
- McNamara, M.G., Kelly, J.P., Leonard, B.E. Some behavioural and neurochemical aspects of subacute (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 1995, 52(3):479-484.
- McNamara, R., Kerans, A., O'Neill, B., Harkin, A. Caffeine promotes hyperthermia and serotonergic loss following co-administration of the substituted amphetamines, MDMA ("Ecstasy") and MDA ("Love"). *Neuropharmacology*. 2006, 50:69-80.
- Mechan, A.O., Esteban, B., O'Shea, E., Elliott, J.M., Colado, M.I., Green, A.R. The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'ecstasy') to rats. *Br J Pharmacol*. 2002, 135:170-180.
- Medina, L., Puelles, L., Smeets, W.J. Development of catecholamine systems in the brain of the lizard *Gallotia galloti*. *J Comp Neurol*. 1994, 350:41-62.
- Mehta, M.A., Goodyer, I.M., Sahakian, B.J. Methylphenidate improves working memory and set-shifting in AD/HD: relationships to baseline memory capacity. *J Child Psychol Psychiatry*. 2004, 45(2):293-305.
- Meltzer, H.Y., Stahl, S.M. The dopamine hypothesis of schizophrenia: a review. *Schizophr Bull*. 1976, 2:19-76.
- Meririnne, E., Kankaanpää, A., Seppälä, T. Rewarding properties of methylphenidate: sensitization by prior exposure to the drug and effects of dopamine D1- and D2-receptor antagonists. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001, 298(2):539-550.
- Messinger, D.S., Bauer, C.R., Das, A., Seifer, R., Lester, B.M., Lagasse, L.L., Wright, L.L., Shankaran, S., Bada, H.S., Smeriglio, V.L., Langer, J.C., Beeghly, M., Poole, W.K. The maternal lifestyle study: cognitive, motor, and behavioral outcomes of cocaine-exposed and opiate-exposed infants through three years of age. *Pediatrics*. 2004, 113(6):1677-1685.
- Meyer, J.S., Ali, S.F. Serotonergic neurotoxicity of MDMA (ecstasy) in the developing rat brain. *Ann N Y Acad Sci*. 2002, 965:373-380.
- Meyer, J.S., Dupont, S.A. Prenatal cocaine administration stimulates fetal brain tyrosine hydroxylase activity. *Brain Res*. 1993, 608:129-137.
- Meyer, J.S., Grande, M., Johnson, K., Ali, S.F. Neurotoxic effects of MDMA ("ecstasy") administration to neonatal rats. *Int J Dev Neurosci*. 2004, 22(5-6):261-271.

- Meyer, J.S., Robinson, P., Todtenkopf, M.S. Prenatal cocaine treatment reduces haloperidol-induced catalepsy on postnatal day 10. *Neurotoxicol Teratol.* 1994, 16(2):193-199.
- Miller, H. Prenatal cocaine exposure and mother-infant interaction: implications for occupational therapy intervention. *Am J Occup Ther.* 1997, 51(2):119-131.
- Miller, D.B., O'Callaghan, J.P. The role of temperature, stress, and other factors in the neurotoxicity of the substituted amphetamines 3,4-methylenedioxymethamphetamine and fenfluramine. *Mol Neurobiol.* 1995, 11(1-3):177-192.
- Mogenson, G.J., Jones, D.L., Yim, C.Y. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol.* 1980, 14(2-3):69-97.
- Mogi, M., Togari, A., Kondo, T., Mizuno, Y., Komure, O., Kuno, S., Ichinose, H., Nagatsu, T. Brain-derived growth factor and nerve growth factor concentrations are decreased in the substantia nigra in Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 1999, 270:45-48.
- Moll, G.H., Hause, S., R  ther, E., Rothenberger, A., Huether, G. Early methylphenidate administration to young rats causes a persistent reduction in the density of striatal dopamine transporters. *J Child Adolesc Psychopharmacol.* 2001, 11:15-24.
- Molliver, M.E., Berger, U.V., Mamounas, L.A., Molliver, D.C., O'Hearn, E., Wilson, M.A. Neurotoxicity of MDMA and related compounds: anatomic studies. *Ann N Y Acad Sci.* 1990, 600:649-664.
- Moore, R.J., Vinsant, S.L., Nader, M.A., Porrino, L.J., Friedman, D.P. Effect of cocaine self-administration on dopamine D2 receptors in rhesus monkeys. *Synapse.* 1998, 30:88-96.
- Mordenti, J., Chappell, W. *The use of interspecies scaling in toxicokinetics*, in *Toxicokinetics and New Drug Development*. New York Pergamon Press: Yacobi A., Kelly J., Batra V. eds. 1989, pp 42-96.
- M  rland, J. Toxicity of drug abuse--amphetamine designer drugs (ecstasy): mental effects and consequences of single dose use. *Toxicol Lett.* 2000, 112-113:147-152.
- Morley, K.C., Gallate, J.E., Hunt, G.E., Mallet, P.E., McGregor, I.S. Increased anxiety and impaired memory in rats 3 months after administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine ("ecstasy"). *Eur J Pharmacol.* 2001, 433:91-99.
- Morley, K.C., McGregor, I.S. (+/-)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy') increases social interaction in rats. *Eur J Pharmacol.* 2000, 408:41-49.
- Muneoka, K., Ogawa, T., Kamei, K., Muraoka, S., Tomiyoshi, R., Mimura, Y., Kato, H., Suzuki, M.R., Takigawa, M. Prenatal nicotine exposure affects the development of the central serotonergic system as well as the dopaminergic system in rat offspring: involvement of route of drug administrations. *Brain Res Dev Brain Res.* 1997, 102:117-126.
- Munro, C.A., McCaul, M.E., Wong, D.F., Oswald, L.M., Zhou, Y., Brasic, J., Kuwabara, H., Kumar, A., Alexander, M., Ye, W., Wand, G.S. Sex differences in striatal dopamine release in healthy adults. *Biol Psychiatry.* 2006, 59(10):966-974.
- Murphy, D.D., Rueter, S.M., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M. Synucleins are developmentally expressed, and alpha-synuclein regulates the size of the presynaptic vesicular pool in primary hippocampal neurons. *J Neurosci.* 2000, 20(9):3214-3220.
- Murray, R.M., Jones, P., O'Callaghan, E., Takei, N., Sham, P.. Genes, viruses and neurodevelopmental schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 1992, 26(4):225-235.
- Murray, L.K., Kollins, S.H. Effects of methylphenidate on sensitivity to reinforcement in children diagnosed with attention deficit hyperactivity disorder: an application of the matching law. *J Appl Behav Anal.* 2000, 33(4):573-591.
- Naftolin, F., Ryan, KJ, Davies, IJ, Petro, Z, Kuhn, M. The formation and metabolism of estrogens in brain tissues. *Adv Biosci.* 1975, 15:105-121.
- Nagahama, Y., Okina, T, Suzuki, N, Nabatame, H, Matsuda, M. The cerebral correlates of different types of perseveration in the Wisconsin Card Sorting Test. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2005, 76(2):169-175.

- Nair, S.G., Gudelsky, G.A. Protein kinase C inhibition differentially affects 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release in the striatum and prefrontal cortex of the rat. *Brain Res.* 2004, 1013(2):168-173.
- Nair, S.G., Gudelsky, G.A. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) enhances the release of acetylcholine by 5-HT<sub>4</sub> and D1 receptor mechanisms in the rat prefrontal cortex. *Synapse.* 2005, 58(4):229-235.
- Nair, S.G., Gudelsky, G.A. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine enhances the release of acetylcholine in the prefrontal cortex and dorsal hippocampus of the rat. *Psychopharmacol.* 2006, 184(2):182-189.
- Nair-Roberts, R.G., Chatelain-Badie, S.D., Benson, E., White-Cooper, H., Bolam, J.P., Ungless, M.A. Stereological estimates of dopaminergic, GABAergic and glutamatergic neurons in the ventral tegmental area, substantia nigra and retrorubral field in the rat. *Neuroscience.* 2008, 152(4):1024-1031.
- Nash, J.F. Ketanserin pretreatment attenuates MDMA-induced dopamine release in the striatum as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci.* 1990, 47(26):2401-2408.
- Nash, J.F., Brodtkin, J. Microdialysis studies on 3,4-methylenedioxymethamphetamine-induced dopamine release: effect of dopamine uptake inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther.* 1991, 259(2):820-825.
- Nash, J.F., Nichols, D.E. Microdialysis studies on 3,4-methylenedioxymethamphetamine and structurally related analogues. *Eur J Pharmacol.* 1991, 200:53-58.
- Nash, J.F., Meltzer, H.Y., Gudelsky, G.A. Effect of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on 3,4-dihydroxyphenylalanine accumulation in the striatum and nucleus accumbens. *J Neurochem.* 1990, 54(3):1062-1067.
- Navarra, R., Graf, R., Huang, Y., Logue, S., Comery, T., Hughes, Z., Day, M. Effects of atomoxetine and methylphenidate on attention and impulsivity in the 5-choice serial reaction time test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2008, 32:34-41.
- Nawa, H., Pelleymounter, M.A., Carnahan, J. Intraventricular administration of BDNF increases neuropeptide expression in newborn rat brain. *J Neurosci.* 1994, 14(6):3751-3765.
- Nestler, E.J. Molecular neurobiology of addiction. *Am J Addict.* 2001, 10(3):201-217.
- Neumeister, A. Tryptophan depletion, serotonin, and depression: where do we stand? *Psychopharmacol Bull.* 2003, 37(4):99-115.
- Nguyen, L., Rigo J.M., Rocher V., Belachew S., Malgrange B., Rogister B., Leprince P., Moonen G. Neurotransmitters as early signals for central nervous system development. *Cell Tissue Res.* 2001, 305:187-202.
- Nichols, D.E., Lloyd D.H., Hoffman A.J., Nichols M.B., Yim G.K. Effects of certain hallucinogenic amphetamine analogues on the release of [3H]serotonin from rat brain synaptosomes. *J Med Chem.* 1982, 25(5):530-535.
- Nieoullon, A. Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Prog Neurobiol.* 2002, 67:53-83.
- Nirenberg, M.J., Chan, J., Vaughan, R.A., Uhl, G.R., Kuhar, M.J., Pickel, V.M. Immunogold localization of the dopamine transporter: an ultrastructural study of the rat ventral tegmental area. *Neurosci.* 1997, 17:5255-5262.
- Nirenberg, M.J., Chan, J., Liu, Y., Edwards, R.H., Pickel, V.M. Ultrastructural localization of the vesicular monoamine transporter-2 in midbrain dopaminergic neurons: potential sites for somatodendritic storage and release of dopamine. *J Neurosci.* 1996, 16(13):4135-4145.
- O'Callaghan, J.P., Miller, D.B. Neurotoxicity profiles of substituted amphetamines in the C57BL/6J mouse. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994, 270(2):741-751.
- Ogren, S.O., Eriksson, T.M., Elvander-Tottie, E., D'Addario, C., Ekström, J.C., Svenningsson, P., Meister, B., Kehr, J., Stiedl, O. The role of 5-HT<sub>1A</sub> receptors in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2008, 195:54-77.
- O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E.B., Kuhar, M.J., Molliver, M.E. Methylenedioxymethamphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA) cause selective ablation of serotonergic axon

- terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *J Neurosci.* 1988, 8(8):2788-2803.
- Okado, N., Cheng, L., Tanatsugu, Y., Hamada, S., Hamaguchi, K. Synaptic loss following removal of serotonergic fibers in newly hatched and adult chickens. *J Neurobiol.* 1993, 24(5):687-698.
- Olson, K.R., Benowitz, N.L. Environmental and drug-induced hyperthermia. Pathophysiology, recognition, and management. *Emerg Med Clin North Am.* 1984, 2(3):459-474.
- Opler, M.G., Susser, E.S. Fetal environment and schizophrenia. *Environ Health Perspect.* 2005, 113(9):1239-1242.
- O'Shea, E., Granados, R., Esteban, B., Colado, M.I., Green, A.R. The relationship between the degree of neurodegeneration of rat brain 5-HT nerve terminals and the dose and frequency of administration of MDMA ('ecstasy'). *Neuropharmacol.* 1998, 37(7):919-926.
- O'Shea, E., Orio, L., Escobedo, I., Sanchez, V., Camarero, J., Green, A.R., Colado, M.I. MDMA-induced neurotoxicity: long-term effects on 5-HT biosynthesis and the influence of ambient temperature. *British J. Pharmacol.* 2006, 148:778-785.
- Owens, M.J., Nemeroff, C.B. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter. *Clin Chem.* 1994, 40(2):288-295.
- Palenicek, T., Votava, M., Bubenikova, V., Horacek, J. Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ('ecstasy') in female rats. *Physiol Behav.* 2005, 86(4):546-553.
- Pallanti, S., Mazzi, D. MDMA (Ecstasy) precipitation of panic disorder. *Biol Psychiatry.* 1992, 32:91-95.
- Parain, K., Murer, M.G., Yan, Q., Faucheux, B., Agid, Y., Hirsch, E., Raisman-Vozari, R. Reduced expression of brain-derived neurotrophic factor protein in Parkinson's disease substantia nigra. *Neuroreport.* 1999, 10(3):557-561.
- Paris, J.M., Cunningham, K.A. Lack of serotonin neurotoxicity after intraraphe microinjection of (+)-3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Brain Res Bull.* 1992, 28:115-119.
- Parnavelas, J.G., Cavanagh, M.E. Transient expression of neurotransmitters in the developing neocortex. *Trends Neurosci.* 1988, 11(3):92-93.
- Parran, T.V. Jr., Jasinski, D.R. Intravenous methylphenidate abuse. Prototype for prescription drug abuse. *Arch Intern Med.* 1991, 151(4):781-783.
- Partilla, J.S., Dempsey, A.G., Nagpal, A.S., Blough, B.E., Baumann, M.H., Rothman, R.B. Interaction of amphetamines and related compounds at the vesicular monoamine transporter. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006, 319:237-246.
- Pascoli, V., Valjent, E., Corbillé, A.G., Corvol, J.C., Tassin, J.P., Girault, J.A., Hervé, D. cAMP and extracellular signal-regulated kinase signaling in response to d-amphetamine and methylphenidate in the prefrontal cortex in vivo: role of beta 1-adrenoceptors. *Mol Pharmacol.* 2005, 68(2):421-429.
- Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., Caston, J. Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Brain Res Dev Brain Res.* 2004, 149(2):85-92.
- Patrick, K.S., Caldwell, R.W., Ferris, R.M., Breese, G.R. Pharmacology of the enantiomers of threo-methylphenidate. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987, 241:152-158.
- Patrick, K.S., Kilts, C.D., Breese, G.R. Synthesis and pharmacology of hydroxylated metabolites of methylphenidate. *J Med Chem.* 1981, 24(10):1237-1240.
- Patrick, K.S., Straughn, A.B., Minhinnett, R.R., Yeatts, S.D., Herrin, A.E., DeVane, C.L., Malcolm R., Janis G.C., Markowitz J.S. Influence of ethanol and gender on methylphenidate pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther.* 2007, 81(3):346-353.
- Patrick, S.L., Thompson, T.L., Walker, J.M., Patrick, R.L. Concomitant sensitization of amphetamine-induced behavioral stimulation and in vivo dopamine release from rat caudate nucleus. *Brain Res.* 1991, 11;538(2):343-346.
- Paulson, P.E., Robinson, T.E. Amphetamine-induced time-dependent sensitization of dopamine neurotransmission in the dorsal and ventral striatum: a microdialysis study in behaving rats. *Synapse.* 1995, 19:56-65.

- Paxinos, G., Watson, C. *The rat brain stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York, 1986.
- Peng, W., Premkumar, A., Mossner, R., Fukuda, M., Lesch, K.P., Simantov, R. Synaptotagmin I and IV are differentially regulated in the brain by the recreational drug 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Brain Res Mol Brain Res*. 2002, 108(1-2):94-101.
- Penner, M.R., McFadyen, M.P., Carrey, N., Brown, R.E. Effects of chronic and acute methylphenidate hydrochloride (Ritalin) administration on locomotor activity, ultrasonic vocalizations, and neuromotor development in 3- to 11-day-old CD-1 mouse pups. *Dev Psychobiol*. 2001, 39(3):216-228.
- Penner, M.R., McFadyen, M.P., Pinaud, R., Carrey, N., Robertson, H.A., Brown, R.E. Age-related distribution of c-fos expression in the striatum of CD-1 mice after acute methylphenidate administration. *Brain Res Dev Brain Res*. 2002, 135(1-2):71-77.
- Peroutka, S.J., Newman, H., Harris, H. Subjective effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine in recreational users. *Neuropsychopharmacology*. 1988, 1(4):273-277.
- Pettit, H.O., Justice, J.B. Jr. Dopamine in the nucleus accumbens during cocaine self-administration as studied by in vivo microdialysis. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989, 34(4):899-904.
- Pierce, R.C., Pierce-Bancroft, A.F., Prasad, B.M. Neurotrophin-3 contributes to the initiation of behavioral sensitization to cocaine by activating the Ras/Mitogen-activated protein kinase signal transduction cascade. *J Neurosci*. 1999, 19(19):8685-8695.
- Pierce, R.C., Kalivas, P.W. A circuitry model of the expression of behavioral sensitization to amphetamine-like psychostimulants. *Brain Res Brain Res Rev*. 1997, 25(2):192-216.
- Pilotte, N.S., Sharpe, L.G., Kuhar, M.J. Withdrawal of repeated intravenous infusions of cocaine persistently reduces binding to dopamine transporters in the nucleus accumbens of Lewis rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994, 269(3):963-969.
- Piper, B.J., Meyer, J.S. Increased responsiveness to MDMA in adult rats treated neonatally with MDMA. *Neurotoxicol Teratol*. 2006, 28:95-102.
- Puelles, L., Verney, C. Early neuromeric distribution of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive neurons in human embryos. *J Comp Neurol*. 1998, 394(3):283-308.
- Quinn, D. Does chirality matter? pharmacodynamics of enantiomers of methylphenidate in patients with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2008, 28:62-66.
- Radley, J.J., Jacobs, B.L. 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res*. 2002, 955(1-2):264-267.
- Rakic, P. Defects of neuronal migration and the pathogenesis of cortical malformations. *Prog Brain Res*. 1988, 73:15-37.
- Rakic, S., Zecevic, N. Programmed cell death in the developing human telencephalon. *Eur J Neurosci*. 2000, 12(8):2721-2734.
- Rapoport, J.L., Addington, A.M., Frangou, S., Psych, M.R. The neurodevelopmental model of schizophrenia: update 2005. *Mol Psychiatry*. 2005, 10(5):434-449.
- Redalieu, E., Bartlett, M.F., Waldes, L.M., Darrow, W.R., Egger, H., Wagner, W.E. A study of methylphenidate in man with respect to its major metabolite. *Drug Metab Dispos*. 1982, 10(6):708-709.
- Reneman, L., Booij, J., de Bruin, K., Reitsma, J.B., de Wolff, F.A., Gunning, W.B., den Heeten, J.G., van den Brink, W. Effects of dose, sex, and long-term abstinence from use on toxic effects of MDMA (ecstasy) on brain serotonin neurons. *Lancet* 2001, 358:1864-1869.
- Reneman, L., Booij, J., Lavalaye, J., de Bruin, K., Reitsma, J.B., Gunning, B., den Heeten, G.J., van Den Brink, W. Use of amphetamine by recreational users of ecstasy (MDMA) is associated with reduced striatal dopamine transporter densities: a [<sup>123</sup>I]beta-CIT SPECT study--preliminary report. *Psychopharmacol*. 2002, 159(3):335-340.
- Reneman, L., Booij, J., Habraken, J.B., De Bruin, K., Hatzidimitriou, G., Den Heeten, G.J., Ricaurte, G.A. Validity of [<sup>123</sup>I]beta-CIT SPECT in detecting MDMA-induced serotonergic neurotoxicity. *Synapse*. 2002, 46(3):199-205.

- Reneman, L., Booij, J., Schmand, B., van den Brink, W., Gunning, B. Memory disturbances in "Ecstasy" users are correlated with an altered brain serotonin neurotransmission. *Psychopharmacol.* 2000, 148(3):322-324.
- Reneman, R.S., van der Starre, P.J. Serotonin and acute cardiovascular disorders. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1990, 4:19-25.
- Reznikov, A.G., Nosenko, N.D., Tarasenko, L.V., Sinitsyn, P.V., Polyakova, L.I. Early and long-term neuroendocrine effects of prenatal stress in male and female rats. *Neurosci Behav Physiol.* 2001, 31:1-5.
- Ricaurte, G.A., McCann, U.D., Szabo, Z., Scheffel, U. Toxicodynamics and long-term toxicity of the recreational drug, 3, 4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, 'Ecstasy'). *Toxicol Lett.* 2000, 112-113:143-146.
- Ricaurte, G.A., Markowska, A.L., Wenk, G.L., Hatzidimitriou, G., Wlos, J., Olton, D.S. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine, serotonin and memory. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993, 266(2):1097-1105.
- Rice, D., Barone, S. Jr. Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. *Environ Health Perspect.* 2000, 108:511-533.
- Richard, D., Senon, J.L., Valleur, M. *Dictionnaire des drogues et des dépendances*, Larousse, 2004.
- Riddle, E.L., Topham, M.K., Haycock, J.W., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E. Differential trafficking of the vesicular monoamine transporter-2 by methamphetamine and cocaine. *Eur J Pharmacol.* 2002, 449(1-2):71-74.
- Rivest, R., Falardeau, P., Di Paolo, T. Brain dopamine transporter: gender differences and effect of chronic haloperidol. *Brain Res.* 1995, 692(1-2):269-272.
- Robbins, T.W., Everitt, B.J. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996, 6:228-236.
- Robinson, T.E., Berridge, K.C. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993, 18(3):247-291.
- Robinson, T.E., Berridge, K.C. Incentive-sensitization and addiction. *Addiction.* 2001, 96:103-114.
- Robinson, T.E., Jurson, P.A., Bennett, J.A., Bentgen, K.M. Persistent sensitization of dopamine neurotransmission in ventral striatum (nucleus accumbens) produced by prior experience with (+)-amphetamine: a microdialysis study in freely moving rats. *Brain Res.* 1988, 462(2):211-222.
- Romero, R., Gotsch, F., Pineles, B., Kusanovic, J.P. Inflammation in pregnancy: its roles in reproductive physiology, obstetrical complications, and fetal injury. *Nutr Rev.* 2007, 65:194-202.
- Roth, B.L., Hamblin, M.W., Ciaranello, R.D. Developmental regulation of 5-HT<sub>2</sub> and 5-HT<sub>1c</sub> mRNA and receptor levels. *Brain Res Dev Brain Res.* 1991, 58:51-58.
- Rothman, R.B., Baumann, M.H. Monoamine transporters and psychostimulant drugs. *Eur J Pharmacol.* 2003, 479(1-3):23-40.
- Rothman, R.B., Baumann, M.H., Dersch, C.M., Romero, D.V., Rice, K.C., Carroll, F.I., Partilla, J.S. Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse.* 2001, 39:32-41.
- Rothman, R.B., Dersch, C.M., Carroll, F.I., Ananthan, S. Studies of the biogenic amine transporters. VIII: identification of a novel partial inhibitor of dopamine uptake and dopamine transporter binding. *Synapse.* 2002, 43(4):268-274.
- Rosenberg, D.R., Lewis, D.A. Postnatal maturation of the dopaminergic innervation of monkey prefrontal and motor cortices: a tyrosine hydroxylase immunohistochemical analysis. *J Comp Neurol.* 1995, 358(3):383-400.
- Rubenstein, J.L. Development of the cerebral cortex: V. Transcription factors and brain development. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry.* 1998, 37(5):56156-56162.
- Rudnick, G., Clark, J. From synapse to vesicle: the reuptake and storage of biogenic amine neurotransmitters. *Biochim Biophys Acta.* 1993, 1144(3):249-263.



- Rudnick, G., Wall, S.C. The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992, 89(5):1817-1821.
- Rumajogee, P., Madeira, A., Vergé, D., Hamon, M., Miquel, MC. Up-regulation of the neuronal serotonergic phenotype in vitro: BDNF and cAMP share Trk B-dependent mechanisms. *J Neurochem*. 2002, 83(6):1525-1528.
- Rusyniak, D.E., Ootsuka, Y., Blessing, W.W. When administered to rats in a cold environment, 3,4-methylenedioxymethamphetamine reduces brown adipose tissue thermogenesis and increases tail blood flow: Effects of pretreatment with 5-HT(1A) and dopamine D(2) antagonists. *Neuroscience*. 2008, 154(4):1619-1626.
- Ryan, T.A., Li, L., Chin, L.S., Greengard, P., Smith, S.J. Synaptic vesicle recycling in synapsin I knock-out mice. *J Cell Biol*. 1996, 134(5):1219-1227.
- Saadat, K.S., O'shea, E., Colado, M.I., Elliott, J.M., Green A.R. The role of 5-HT in the impairment of thermoregulation observed in rats administered MDMA ('ecstasy') when housed at high ambient temperature. *Psychopharmacology*. 2005, 179(4):884-890.
- Sabol, K.E., Lew, R., Richards, J.B., Vosmer, G.L., Seiden, L.S. Methylenedioxymethamphetamine-induced serotonin deficits are followed by partial recovery over a 52-week period. Part I: Synaptosomal uptake and tissue concentrations. *J Pharmacol Exp Ther*. 1996, 276(2):846-854.
- Sabol, K.E., Seiden, L.S. Reserpine attenuates D-amphetamine and MDMA-induced transmitter release in vivo: a consideration of dose, core temperature and dopamine synthesis. *Brain Res*. 1998, 806:69-78.
- Sanchez, V., Camarero, J., Esteban, B., Peter, M.J., Green, A.R., Colado, M.I. The mechanisms involved in the long-lasting neuroprotective effect of fluoxetine against MDMA ('ecstasy')-induced degeneration of 5-HT nerve endings in rat brain. *Br J Pharmacol*. 2001, 134:46-57.
- Sanchez, V., O'shea, E., Saadat, K.S., Elliott, J.M., Colado, M.I., Green, A.R. Effect of repeated ('binge') dosing of MDMA to rats housed at normal and high temperature on neurotoxic damage to cerebral 5-HT and dopamine neurones. *J Psychopharmacol*. 2004, 18(3):412-416.
- Sandoval, V., Riddle, E.L., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E. Methylphenidate redistributes vesicular monoamine transporter-2: role of dopamine receptors. *J Neurosci*. 2002, 22(19):8705-8710.
- Sandoval, V., Riddle, E.L., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E. Methylphenidate alters vesicular monoamine transport and prevents methamphetamine-induced dopaminergic deficits. *J Pharmacol Exp Ther*. 2002, 304(3):1181-1187.
- Sari, Y., Powrozek, T., Zhou, F.C. Alcohol deters the outgrowth of serotonergic neurons at midgestation. *J Biomed Sci*. 2001, 8:119-125.
- Saucedo-Cardenas, O., Quintana-Hau, J.D., Le, W.D., Smidt, M.P., Cox, J.J., De Mayo, F., Burbach, J.P., Conneely, O.M. Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998, 95(7):4013-4018.
- Scanzello, C.R., Hatzidimitriou, G., Martello, A.L., Katz, J.L., Ricaurte, G.A. Serotonergic recovery after (+/-)3,4-(methylenedioxy) methamphetamine injury: observations in rats. *J Pharmacol Exp Ther*. 1993, 264(3):1484-1491.
- Schaefer, T.L., Ehrman, L.A., Gudelsky, G.A., Vorhees, C.V., Williams, M.T. Comparison of monoamine and corticosterone levels 24 h following (+)methamphetamine, (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine, cocaine, (+)fenfluramine or (+/-)methylphenidate administration in the neonatal rat. *J Neurochem*. 2006, 98(5):1369-1378.
- Schaefer, T.L., Skelton, M.R., Herring, N.R., Gudelsky, G.A., Vorhees, C.V., Williams, M.T. Short- and long-term effects of (+)methamphetamine and (+/-)3,4-methylenedioxymethamphetamine on monoamine and corticosterone levels in the neonatal rat following multiple days of treatment. *J Neurochem*. 2008, 104(6):1674-1685.
- Schenk, S., Izenwasser, S. Pretreatment with methylphenidate sensitizes rats to the reinforcing effects of cocaine. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002, 72(3):651-657.

- Scherman, D., Raisman, R., Ploska, A., Agid, Y. [3H]dihydrotetrabenazine, a new in vitro monoaminergic probe for human brain. *J Neurochem.* 1988, 50:1131-1136.
- Schmidt, C.J. Neurotoxicity of the psychedelic amphetamine, methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther.* 1987, 240:1-7.
- Schmidt, C.J. Acute and long-term neurochemical effects of methylenedioxymethamphetamine in the rat. *NIDA Res Monogr.* 1989, 94:179-195.
- Schmidt, C.J., Black, C.K., Taylor, V.L. L-DOPA potentiation of the serotonergic deficits due to a single administration of 3,4-methylenedioxymethamphetamine, p-chloroamphetamine or methamphetamine to rats. *Eur J Pharmacol.* 1991, 203:41-49.
- Schmidt, C.J., Kehne, J.H. Neurotoxicity of MDMA: neurochemical effects. *Ann N Y Acad Sci.* 1990, 600:665-681.
- Schmidt, C.J., Levin, J.A., Lovenberg, W. In vitro and in vivo neurochemical effects of methylenedioxymethamphetamine on striatal monoaminergic systems in the rat brain. *Biochem Pharmacol.* 1987, 36(5):747-755.
- Schmidt, C.J., Sullivan, C.K., Fadaye, G.M. Blockade of striatal 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptors reduces the increase in extracellular concentrations of dopamine produced by the amphetamine analogue 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Neurochem.* 1994, 62(4):1382-1389.
- Schmidt, C.J., Taylor, V.L. Depression of rat brain tryptophan hydroxylase activity following the acute administration of methylenedioxymethamphetamine. *Biochem Pharmacol.* 1987, 36(23):4095-4102.
- Schuldiner, S., Steiner-Mordoch, S., Yelin, R., Wall, S.C., Rudnick, G. Amphetamine derivatives interact with both plasma membrane and secretory vesicle biogenic amine transporters. *Mol Pharmacol.* 1993, 44(6):1227-1231.
- Schulte-Herbrüggen, O., Chourbaji, S., Ridder, S., Brandwein, C., Gass, P., Hörtnagl, H., Hellweg, R. Stress-resistant mice overexpressing glucocorticoid receptors display enhanced BDNF in the amygdala and hippocampus with unchanged NGF and serotonergic function. *Psychoneuroendocrinology.* 2006, 31(10):1266-1277.
- Schweri, M.M., Skolnick, P., Rafferty, M.F., Rice, K.C., Janowsky, A.J., Paul, S.M. [3H]Threo-(+/-)-methylphenidate binding to 3,4-dihydroxyphenylethylamine uptake sites in corpus striatum: correlation with the stimulant properties of ritalinic acid esters. *J Neurochem.* 1985, 45(4):1062-1070.
- Seamans, J.K., Yang, C.R. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol.* 2004, 74:1-58.
- Sebastian, M.V., Menor, J., Elosua, M.R. Attentional dysfunction of the central executive in AD: evidence from dual task and perseveration errors. *Cortex.* 2006, 42(7):1015-1020.
- Seeman, P. Dopamine receptors and the dopamine hypothesis of schizophrenia. *Synapse.* 1987, 1(2):133-152.
- Segal, D.S., Kuczenski, R. Escalating dose-binge treatment with methylphenidate: role of serotonin in the emergent behavioral profile. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999, 291:19-30.
- Segal, D.S., Kuczenski, R. Repeated cocaine administration induces behavioral sensitization and corresponding decreased extracellular dopamine responses in caudate and accumbens. *Brain Res.* 1992, 577(2):351-355.
- Seidler, F.J., Slotkin, T.A. Prenatal cocaine and cell development in rat brain regions: effects on ornithine decarboxylase and macromolecules. *Brain Res Bull.* 1993, 30(1-2):91-99.
- Seidler, F.J., Temple, S.W., McCook, E.C., Slotkin, T.A. Cocaine inhibits central noradrenergic and dopaminergic activity during the critical developmental period in which catecholamines influence cell development. *Brain Res Dev Brain Res.* 1995, 85:48-53.
- Self, D.W., Barnhart, W.J., Lehman, D.A., Nestler, E.J. Opposite modulation of cocaine-seeking behavior by D1- and D2-like dopamine receptor agonists. *Science.* 1996, 271(5255):1586-1589.
- Self, D.W., Karanian, D.A., Spencer, J.J. Effects of the novel D1 dopamine receptor agonist ABT-431 on cocaine self-administration and reinstatement. *Ann N Y Acad Sci.* 2000, 909:133-144.

- Seiple, D.M., Ebmeier, K.P., Glabus, M.F., O'Carroll, R.E., Johnstone, E.C. Reduced in vivo binding to the serotonin transporter in the cerebral cortex of MDMA ('ecstasy') users. *Br J Psychiatry*. 1999, 175:63-69.
- Shatz, C.J., Stryker, M.P. Prenatal tetrodotoxin infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science*. 1988, 242(4875):87-89.
- Sherlock, K., Wolff, K., Hay, A.W., Conner, M. Analysis of illicit ecstasy tablets: implications for clinical management in the accident and emergency department. *J Accid Emerg Med*. 1999, 16(3):194-197.
- Shimura, T., Kamada, Y., Yamamoto, T. Ventral tegmental lesions reduce overconsumption of normally preferred taste fluid in rats. *Behav Brain Res*. 2002, 134(1-2):123-130.
- Shioda, K., Nisijima, K., Yoshino, T., Kuboshima, K., Iwamura, T., Yui, K., Kato, S. Risperidone attenuates and reverses hyperthermia induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in rats. *Neurotoxicology*. 2008, 29(6):1030-1036.
- Shulgin, A.T., Nichols, D.E. 1978, Characterization of three new psychotomimetics. In R. C. Stillman and R. E. Willette [eds.], *The psychopharmacology of hallucinogens*. Pergamon Press, New York. Pp. 74-83. 107
- Siegel, R.K. MDMA. Nonmedical use and intoxication. *J Psychoactive Drugs*. 1986, 18(4):349-354.
- Simantov, R., Peng, W. MDMA (Ecstasy) controls in concert a group of genes involved in GABA neurotransmission. *FEBS Lett*. 2004, 563(1-3):3-6.
- Singh, M., Meyer, E.M., Simpkins, J.W. The effect of ovariectomy and estradiol replacement on brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid expression in cortical and hippocampal brain regions of female Sprague-Dawley rats. *Endocrinology*. 1995, 136(5):2320-2324.
- Siuciak, J.A., Boylan, C., Fritsche, M., Altar, C.A., Lindsay, R.M. BDNF increases monoaminergic activity in rat brain following intracerebroventricular or intraparenchymal administration. *Brain Res*. 1996, 710(1-2):11-20.
- Skelton, M.R., Williams, M.T., Vorhees, C.V. Treatment with MDMA from P11-20 disrupts spatial learning and path integration learning in adolescent rats but only spatial learning in older rats. *Psychopharmacol*. 2006, 189(3):307-318.
- Slikker, W. Jr., Holson, R.R., Ali, S.F., Kolta, M.G., Paule, M.G., Scallet, A.C., McMillan, D.E., Bailey, J.R., Hong, J.S., Scalzo, F.M. Behavioral and neurochemical effects of orally administered MDMA in the rodent and nonhuman primate. *Neurotoxicol*. 1989, 10(3):529-542.
- Smidt, M.P., Burbach, J.P. How to make a mesodiencephalic dopaminergic neuron. *Nat Rev Neurosci*. 2007, 8:21-32.
- Smidt, M.P., Smits, S.M., Burbach, J.P. Molecular mechanisms underlying midbrain dopamine neuron development and function. *Eur J Pharmacol*. 2003, 480:75-88.
- Snyder, S.H. The dopamine hypothesis of schizophrenia: focus on the dopamine receptor. *Am J Psychiatry*. 1976, 133(2):197-202.
- Solanto, M.V. Neuropsychopharmacological mechanisms of stimulant drug action in attention-deficit hyperactivity disorder: a review and integration. *Behav Brain Res*. 1998, 94:127-152.
- Sonuga-Barke, E.J., Coghill, D., Markowitz, J.S., Swanson, J.M., Vandenberghe, M., Hatch, S.J. Sex differences in the response of children with ADHD to once-daily formulations of methylphenidate. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2007, 46(6):701-710.
- Sokoloff, P., Andrieux, M., Besançon, R., Pilon, C., Martres, M.P., Giros, B., Schwartz, J.C. Pharmacology of human dopamine D3 receptor expressed in a mammalian cell line: comparison with D2 receptor. *Eur J Pharmacol*. 1992, 225:331-337.
- Spanos, L.J., Yamamoto, B.K. Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(+/-)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*. 1989, 32(4):835-840.
- Specht, L.A., Pickel, V.M., Joh, T.H., Reis, D.J. Light-microscopic immunocytochemical localization of tyrosine hydroxylase in prenatal rat brain. I. Early ontogeny. *J Comp Neurol*. 1981, 199(2):233-253.

- Spencer, T.J., Biederman, J., Harding, M., O'Donnell, D., Faraone, S.V., Wilens, T.E. Growth deficits in ADHD children revisited: evidence for disorder-associated growth delays? *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1996, 35(11):1460-1469.
- Spencer, G.E., Klumperman, J., Syed, N.I. Neurotransmitters and neurodevelopment. Role of dopamine in neurite outgrowth, target selection and specific synapse formation. *Perspect Dev Neurobiol*. 1998, 5(4):451-467.
- Sprague, J.E., Everman, S.L., Nichols, D.E. An integrated hypothesis for the serotonergic axonal loss induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *Neurotoxicol*. 1998, 19(3):427-441.
- Sprouse, J.S., Bradberry, C.W., Roth, R.H., Aghajanian, G.K. MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) inhibits the firing of dorsal raphe neurons in brain slices via release of serotonin. *Eur J Pharmacol*. 1989, 167(3):375-383.
- Slikker, W. Jr., Ali, S.F., Scallet, A.C., Frith, C.H., Newport, G.D., Bailey, J.R. Neurochemical and neurohistological alterations in the rat and monkey produced by orally administered methylenedioxymethamphetamine (MDMA). *Toxicol Appl Pharmacol*. 1988, 94(3):448-457.
- Spina, M.B., Squinto, S.P., Miller, J., Lindsay, R.M., Hyman, C. Brain-derived neurotrophic factor protects dopamine neurons against 6-hydroxydopamine and N-methyl-4-phenylpyridinium ion toxicity: involvement of the glutathione system. *J Neurochem*. 1992, 59:99-106.
- Srinivas, N.R., Hubbard, J.W., Korchinski, E.D., Midha, K.K. Enantioselective pharmacokinetics of dl-threo-methylphenidate in humans. *Pharm Res*. 1993, 10:14-21.
- Srinivas, N.R., Hubbard, J.W., Quinn, D., Midha, K.K. Enantioselective pharmacokinetics and pharmacodynamics of dl-threo-methylphenidate in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Clin Pharmacol Ther*. 1992, 52(5):561-568.
- Stadlin, A., Choi, H.L., Tsim, K.W., Tsang, D. Prenatal cocaine exposure revealed minimal postnatal changes in rat striatal dopamine D2 receptor sites and mRNA levels in the offspring. *Mol Neurobiol*. 1995, 11(1-3):67-76.
- Steele, T.D., Nichols, D.E., Yim, G.K. Stereochemical effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and related amphetamine derivatives on inhibition of uptake of [3H]monoamines into synaptosomes from different regions of rat brain. *Biochem Pharmacol*. 1987, 36(14):2297-2303.
- Steiner, H., Gerfen, C.R. Role of dynorphin and enkephalin in the regulation of striatal output pathways and behavior. *Exp Brain Res*. 1998, 123(1-2):60-76.
- Stephenson, C.P., Hunt, G.E., Topple, A.N., McGregor, I.S. The distribution of 3,4-methylenedioxymethamphetamine "Ecstasy"-induced c-fos expression in rat brain. *Neuroscience*. 1999, 92(3):1011-1023.
- St Omer, V.E., Ali, S.F., Holson, R.R., Duhart, H.M., Scalzo, F.M., Slikker, W.Jr; Behavioral and neurochemical effects of prenatal methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure in rats. *Neurotoxicol. Teratol*. 1991, 13:13-20.
- Stone, D.M., Johnson, M., Hanson, G.R., Gibb, J.W. Role of endogenous dopamine in the central serotonergic deficits induced by 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1988, 247:79-87.
- Stone, D.M., Merchant, K.M., Hanson, G.R., Gibb, J.W. Immediate and long-term effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on serotonin pathways in brain of rat. *Neuropharmacol*. 1987, 26(12):1677-1683.
- Stone, D.M., Stahl, D.C., Hanson, G.R., Gibb, J.W. The effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) and 3,4-methylenedioxymphetamine (MDA) on monoaminergic systems in the rat brain. *Eur J Pharmacol*. 1986, 128(1-2):41-48.
- Strote, J., Lee, J.E., Wechsler, H. Increasing MDMA use among college students: results of a national survey. *J Adolesc Health*. 2002, 30:64-72.
- Sundström, E., Köläre, S., Souverbie, F., Samuelsson, E.B., Pschera, H., Lunell, N.O., Seiger, A. Neurochemical differentiation of human bulbospinal monoaminergic neurons during the first trimester. *Brain Res Dev Brain Res*. 1993, 75:1-12.

- Swanson, L.W. The projections of the ventral tegmental area and adjacent regions: a combined fluorescent retrograde tracer and immunofluorescence study in the rat. *Brain Res Bull.* 1982, 9(1-6):321-353.
- Swanson, J.M., Wigal, S.B., Udrea, D., Lerner, M., Agler, D., Flynn, D., Fineberg, E., Davies, M., Kardatzke, D., Ram, A., Gupta, S. Evaluation of individual subjects in the analog classroom setting: I. Examples of graphical and statistical procedures for within-subject ranking of responses to different delivery patterns of methylphenidate. *Psychopharmacol Bull.* 1998, 34(4):825-832.
- Swerdlow, N.R., Caine, S.B., Geyer, M.A. Regionally selective effects of intracerebral dopamine infusion on sensorimotor gating of the startle reflex in rats. *Psychopharmacology.* 1992, 108(1-2):189-195.
- Swerdlow, N.R., Zisook, D., Taaid, N. Seroquel (ICI 204,636) restores prepulse inhibition of acoustic startle in apomorphine-treated rats: Similarities to clozapine. *Psychopharmacology.* 1994, 114(4):675-678.
- Szapacs, M.E., Mathews, T.A., Tessarollo, L., Ernest, Lyons, W., Mamounas, L.A., Andrews, A.M. Exploring the relationship between serotonin and brain-derived neurotrophic factor: analysis of BDNF protein and extraneuronal 5-HT in mice with reduced serotonin transporter or BDNF expression. *J Neurosci Methods.* 2004, 140(1-2):81-92.
- Taber, M.T., Das, S., Fibiger, H.C. Cortical regulation of subcortical dopamine release: mediation via the ventral tegmental area. *J. Neurochem.* 1995, 65:1407-1410.
- Tanapat, P., Hastings, N.B., Rydel, T.A., Galea, L.A., Gould, E. Exposure to fox odor inhibits cell proliferation in the hippocampus of adult rats via an adrenal hormone-dependent mechanism. *J Comp Neurol.* 2001, 437(4):496-504.
- Tanapat, P., Hastings, N.B., Reeves, A.J., Gould, E. Estrogen stimulates a transient increase in the number of new neurons in the dentate gyrus of the adult female rat. *J Neurosci.* 1999, 19(14):5792-5801.
- Taupin, P., Gage, F.H. Adult neurogenesis and neural stem cells of the central nervous system in mammals. *J Neurosci Res.* 2002, 69(6):745-749.
- Taylor, F.B., Russo, J. Comparing guanfacine and dextroamphetamine for the treatment of adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Clin Psychopharmacol.* 2001, 21(2):223-228.
- Teo, S.K., Stirling, D.I., Hoberman, A.M., Christian, M.S., Thomas, S.D., Khetani, V.D. D-methylphenidate and D,L-methylphenidate are not developmental toxicants in rats and rabbits. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* 2003, 68(2):162-171.
- Teo, S.K., Stirling, D.I., Thomas, S.D., Hoberman, A.M., Christian, M.S., Khetani, V.D. The perinatal and postnatal toxicity of D-methylphenidate and D,L-methylphenidate in rats. *Reprod Toxicol.* 2002, 16(4):353-366.
- Tecott, L., Shtrom, S., Julius, D. Expression of a serotonin-gated ion channel in embryonic neural and nonneural tissues. *Mol Cell Neurosci.* 1995, 6:43-55.
- Teuchert-Noodt, G., Dawirs, R.R., Hildebrandt, K. Adult treatment with methamphetamine transiently decreases dentate granule cell proliferation in the gerbil hippocampus. *J Neural Transm.* 2000, 107(2):133-143.
- Thanos, P.K., Michaelides, M., Benveniste, H., Wang, G.J., Volkow, N.D. Effects of chronic oral methylphenidate on cocaine self-administration and striatal dopamine D2 receptors in rodents. *Pharmacol Biochem Behav.* 2007, 87(4):426-433.
- Thibaut, F., Faucheux, B.A., Marquez, J., Villares, J., Menard, J.F., Agid, Y., Hirsch, E.C. Regional distribution of monoamine vesicular uptake sites in the mesencephalon of control subjects and patients with Parkinson's disease: a postmortem study using tritiated tetrabenazine. *Brain Res.* 1995, 692(1-2):233-243.
- Thiebot, M.H. Are serotonergic neurons involved in the control of anxiety and in the anxiolytic activity of benzodiazepines? *Pharmacol Biochem Behav.* 1986, 24(5):1471-1477.
- Thiriet, N., Ladenheim, B., McCoy, M.T., Cadet, J.L. Analysis of ecstasy (MDMA)-induced transcriptional responses in the rat cortex. *FASEB J.* 2002, 16(14):1887-1894.
- Thompson, V.B., Heiman, J., Chambers, J.B., Benoit, S.C., Buesing, W.R., Norman, M.K., Norman, A.B., Lipton, J.W. Long-term behavioral consequences of prenatal MDMA exposure. *Physiol Behav.* 2009, 96(4-5):593-601.

- Thompson, B.L., Levitt, P., Stanwood, G.D. Prenatal exposure to drugs: effects on brain development and implications for policy and education. *Nat Rev Neurosci.* 2009, 10:303-312.
- Todd, R.D. Neural development is regulated by classical neurotransmitters: dopamine D2 receptor stimulation enhances neurite outgrowth. *Biol Psychiatry.* 1992, 31(8):794-807.
- Tong, J., Wilson, A.A., Boileau, I., Houle, S., Kish, S.J. Dopamine modulating drugs influence striatal (+)-[11C]DTBZ binding in rats: VMAT2 binding is sensitive to changes in vesicular dopamine concentration. *Synapse.* 2008, 62(11):873-876.
- Trommer, B.L., Hoepfner, J.A., Zecker, S.G. The go-no go test in attention deficit disorder is sensitive to methylphenidate. *J Child Neurol.* 1991, 6:128-131.
- Torres-Reverón, A., Dow-Edwards, D.L. Repeated administration of methylphenidate in young, adolescent, and mature rats affects the response to cocaine later in adulthood. *Psychopharmacol.* 2005, 181:38-47.
- Tóth, G., Fekete, M. 5-Hydroxyindole acetic excretion in newborns, infants and children. *Acta Paediatr Hung.* 1986, 27(3):221-226.
- Truong, J.G., Newman, A.H., Hanson, G.R., Fleckenstein, A.E. Dopamine D2 receptor activation increases vesicular dopamine uptake and redistributes vesicular monoamine transporter-2 protein. *Eur J Pharmacol.* 2004, 504(1-2):27-32.
- Tsukada, H., Kreuter, J., Maggos, C.E., Unterwald, E.M., Kakiuchi, T., Nishiyama, S., Futatsubashi, M., Kreek, M.J. Effects of binge pattern cocaine administration on dopamine D1 and D2 receptors in the rat brain: an in vivo study using positron emission tomography. *J Neurosci.* 1996, 16(23):7670-7677.
- Tsukahara, T., Takeda, M., Shimohama, S., Ohara, O., Hashimoto, N. Effects of brain-derived neurotrophic factor on 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine-induced parkinsonism in monkeys. *Neurosurgery.* 1995, 37(4):733-739.
- Turner, D.C., Blackwell, A.D., Dowson, J.H., McLean, A., Sahakian, B.J. Neurocognitive effects of methylphenidate in adult attention-deficit/hyperactivity disorder. *Psychopharmacol.* 2005, 178(2-3):286-295.
- Tzschentke, T.M. The medial prefrontal cortex as a part of the brain reward system. *Amino Acids* 2000, 19:211-219.
- Tzschentke, T.M. Pharmacology and behavioural pharmacology of the mesocortical dopamine system. *Prog. Neurobiol.* 2001, 6: 241-320.
- Ueda, S., Kokotos-Leonardi, E.T., Bell, J., Azmitia, E.C. Serotonergic sprouting into transplanted C-6 gliomas is blocked by S-100 $\beta$  antisense gene. *Brain Res.* 1995, 29:365-368.
- Ungerstedt, U. 6-hydroxydopamine-induced degeneration of the nigrostriatal dopamine pathway: the turning syndrome. *Pharmacol Ther.* 1976, 2:37-40.
- Ullrich, B., Südhof, T.C. Distribution of synaptic markers in the retina: implications for synaptic vesicle traffic in ribbon synapses. *J Physiol Paris.* 1994, 88(4):249-257.
- Ursin, R. Serotonin and sleep. *Sleep Med Rev.* 2002, 6:55-69.
- Vaidya, V.A., Marek, G.J., Aghajanian, G.K., Duman, R.S. 5-HT<sub>2A</sub> receptor-mediated regulation of brain-derived neurotrophic factor mRNA in the hippocampus and the neocortex. *J Neurosci.* 1997, 17(8):2785-2795.
- Van den Heuvel, D.M., Pasterkamp, R.J. Getting connected in the dopamine system. *Prog Neurobiol.* 2008, 85:75-93.
- Vanderschuren, L.J., Kalivas, P.W. Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacol* 2000, 151:99-120.
- Vanderschuren, L.J., Trezza, V., Griffioen-Roose, S., Schiepers, O.J., Van Leeuwen, N., De Vries, T.J., Schoffeleers, A.N. Methylphenidate disrupts social play behavior in adolescent rats. *Neuropsychopharmacol.* 2008, 33(12):2946-2956.

- Van Eden, C.G., Hoorneman, E.M., Buijs, R.M., Matthijssen, M.A., Geffard, M., Uylings, H.B. Immunocytochemical localization of dopamine in the prefrontal cortex of the rat at the light and electron microscopical level. *Neuroscience*. 1987, 22(3):849-862.
- Van Haaren, F., Meyer, M.E. Sex differences in locomotor activity after acute and chronic cocaine administration. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991, 39(4):923-927.
- Vendruscolo, L.F., Izídio, G.S., Takahashi, R.N., Ramos, A. Chronic methylphenidate treatment during adolescence increases anxiety-related behaviors and ethanol drinking in adult spontaneously hypertensive rats. *Behav Pharmacol*. 2008, 19:21-27.
- Vergo, S, Johansen, J.L., Leist, M., Lotharius, J. Vesicular monoamine transporter 2 regulates the sensitivity of rat dopaminergic neurons to disturbed cytosolic dopamine levels. *Brain Res*. 2007, 1185:18-32.
- Verheyden, S.L., Hadfield, J., Calin, T., Curran, H.V. Sub-acute effects of MDMA ( $\pm$ 3,4-methylenedioxymethamphetamine, "ecstasy") on mood: evidence of gender differences. *Psychopharmacol*. 2002, 161:23-31.
- Verney, C. Distribution of the catecholaminergic neurons in the central nervous system of human embryos and fetuses. *Microsc Res Tech*. 1999, 46:24-47.
- Verney, C., Lebrand, C., Gaspar, P. Changing distribution of monoaminergic markers in the developing human cerebral cortex with special emphasis on the serotonin transporter. *Anat Rec*. 2002, 267(2):87-93.
- Verney, C., Zecevic, N., Nikolic, B., Alvarez, C., Berger, B. Early evidence of catecholaminergic cell groups in 5- and 6-week-old human embryos using tyrosine hydroxylase and dopamine-beta-hydroxylase immunocytochemistry. *Neurosci Lett*. 1991, 131:121-124.
- Vernier, P., Moret, F., Callier, S., Snapyan, M., Wersinger, C., Sidhu, A. The degeneration of dopamine neurons in Parkinson's disease: insights from embryology and evolution of the mesostriatocortical system. *Ann N Y Acad Sci*. 2004, 1035:231-249.
- Vertes, R.P., Fortin, W.J., Crane, A.M. Projections of the median raphe nucleus in the rat. *J Comp. Neurol*. 1999, 407:555-582.
- Vezina, P., Lorrain, D.S., Arnold, G.M., Austin, J.D., Suto, N. Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity promotes the pursuit of amphetamine. *J Neurosci*. 2002, 22(11):4654-4662.
- Vincent, S., Bieck, P.R., Garland, E.M., Loghin, C., Bymaster, F.P., Black, B.K., Gonzales, C., Potter, W.Z., Robertson, D. Clinical assessment of norepinephrine transporter blockade through biochemical and pharmacological profiles. *Circulation*. 2004, 109(25):3202-3207.
- Vitalis, T., Cases, O., Parnavelas, J.G. Development of the dopaminergic neurons in the rodent brainstem. *Exp Neurol*. 2005, 191:104-112.
- Volkow, N.D., Ding, Y.S., Fowler, J.S., Wang, G.J., Logan, J., Gatley, S.J., Schlyer, D.J., Pappas, N. A new PET ligand for the dopamine transporter: studies in the human brain. *J Nucl Med*. 1995, 36(12):2162-2168.
- Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J., Telang, F., Logan, J., Wong, C., Ma, J., Pradhan, K., Benveniste, H., Swanson, J.M. Methylphenidate decreased the amount of glucose needed by the brain to perform a cognitive task. *PLoS ONE*. 2008, 3(4):2017.
- Vollenweider, F.X., Gamma, A., Liechti, M., Huber, T. Psychological and cardiovascular effects and short-term sequelae of MDMA ("ecstasy") in MDMA-naïve healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology*. 1998, 19(4):241-251.
- Volpe, B.T., Wildmann, J., Altar, C.A. Brain-derived neurotrophic factor prevents the loss of nigral neurons induced by excitotoxic striatal-pallidal lesions. *Neuroscience*. 1998, 83(3):741-748.
- Volpicelli, F., Caiazzo, M., Greco, D., Consales, C., Leone, L., Perrone-Capano, C., Colucci D'Amato, L., di Porzio, U. Bdnf gene is a downstream target of Nurr1 transcription factor in rat midbrain neurons in vitro. *J Neurochem*. 2007, 102(2):441-453.
- Von Geusau, N.A., Stalenhoef, P., Huizinga, M., Snel, J., Ridderinkhof, K.R. Impaired executive function in male MDMA ("ecstasy") users. *Psychopharmacol*. 2004, 175(3):331-341.

- Voorn, P., Gerfen, C.R., Groenewegen, H.J. Compartmental organization of the ventral striatum of the rat: immunohistochemical distribution of enkephalin, substance P, dopamine, and calcium-binding protein. *J Comp Neurol*. 1989, 289(2):189-201.
- Voorn, P., Kalsbeek, A., Jorritsma-Byham, B., Groenewegen, H.J. The pre- and postnatal development of the dopaminergic cell groups in the ventral mesencephalon and the dopaminergic innervation of the striatum of the rat. *Neuroscience*. 1988, 25(3):857-887.
- Vorhees, C.V., Reed, T.M., Skelton, M.R., Williams, M.T. Exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) on postnatal days 11-20 induces reference but not working memory deficits in the Morris water maze in rats: implications of prior learning. *Int J Dev Neurosci*. 2004, 22(5-6):247-259.
- Vorhees, C.V., Schaefer, T.L., Williams, M.T. Developmental effects of +/-3,4-methylenedioxymethamphetamine on spatial versus path integration learning: effects of dose distribution. *Synapse*. 2007, 61(7):488-499.
- Walker, Q.D., Williams, C.N., Jotwani, R.P., Waller, S.T., Francis, R., Kuhn, C.M. Sex differences in the neurobiochemical and functional effects of MDMA in Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacol*. 2007, 189:435-445.
- Wall, S.C., Gu, H., Rudnick, G. Biogenic amine flux mediated by cloned transporters stably expressed in cultured cell lines: amphetamine specificity for inhibition and efflux. *Mol Pharmacol*. 1995, 47(3):544-550.
- Wallace, J.A., Lauder, J.M. Development of the serotonergic system in the rat embryo: an immunocytochemical study. *Brain Res Bull*. 1983, 10(4):459-479.
- Wang, H.Y., Yeung, J.M., Friedman, E. Prenatal cocaine exposure selectively reduces mesocortical dopamine release. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995, 273(3):1211-1215.
- Wareing, M., Murphy, P.N., Fisk, J.E. Visuospatial memory impairments in users of MDMA ('ecstasy'). *Psychopharmacol*. 2004, 173(3-4):391-397.
- Wareing, M., Fisk, J.E., Murphy, P., Montgomery C. Verbal working memory deficits in current and previous users of MDMA. *Hum Psychopharmacol*. 2004, 19(4):225-234.
- Wargin, W., Patrick, K., Kilts, C., Gualtieri, C.T., Ellington, K., Mueller, R.A., Kraemer, G., Breese, G.R. Pharmacokinetics of methylphenidate in man, rat and monkey. *J Pharmacol Exp Ther*. 1983, 226(2):382-386.
- Wax, P.M. Analeptic use in clinical toxicology: a historical appraisal. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1997, 35(2):203-209.
- Wayment, H.K., Deutsch, H., Schweri, M.M., Schenk, J.O. Effects of methylphenidate analogues on phenethylamine substrates for the striatal dopamine transporter: potential as amphetamine antagonists? *J Neurochem*. 1999, 72(3):1266-1274.
- Weiss, F., Paulus, M.P., Lorang, M.T., Koob, G.F. Increases in extracellular dopamine in the nucleus accumbens by cocaine are inversely related to basal levels: effects of acute and repeated administration. *J Neurosci*. 1992, 12(11):4372-4380.
- Westerink, B.H., Kwint, H.F., deVries, J.B. The pharmacology of mesolimbic dopamine neurons: a dual-probe microdialysis study in the ventral tegmental area and nucleus accumbens of the rat brain. *J Neurosci*. 1996, 16(8):2605-2611.
- White, F.J., Wang, R.Y. A10 dopamine neurons: role of autoreceptors in determining firing rate and sensitivity to dopamine agonists. *Life Sci*. 1984, 34(12):1161-1170.
- Wilens, T.E., Spencer, T.J., Biederman, J. A review of the pharmacotherapy of adults with attention-deficit/hyperactivity disorder. *J Atten Disord*. 2002, 5(4):189-202.
- Wilens, T., Pelham, W., Stein, M., Conners, C.K., Abikoff, H., Atkins, M., August, G., Greenhill, L., McBurnett, K., Palumbo, D., Swanson, J., Wolraich, M. ADHD treatment with once-daily OROS methylphenidate: interim 12-month results from a long-term open-label study. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 2003, 42(4):424-433.



- Wiley, M.D., Poveromo, L.B., Antapasis, J., Herrera, C.M., Bolaños Guzmán, C.A. Kappa-opioid system regulates the long-lasting behavioral adaptations induced by early-life exposure to methylphenidate. *Neuropsychopharmacology*. 2009, 34(5):1339-1350.
- Williams, M.T., Brown, C.A., Skelton, M.R., Vinks, A.A., Vorhees, C.V. Absorption and clearance of +/-3,4-methylenedioxymethamphetamine from the plasma of neonatal rats. *Neurotoxicol Teratol*. 2004, 26(6):849-856.
- Williams, M.T., Morford, L.L., Wood, S.L., Rock, S.L., McCrea, A.E., Fukumura, M., Wallace, T.L., Broening, H.W., Moran, M.S., Vorhees, C.V. Developmental 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) impairs sequential and spatial but not cued learning independent of growth, litter effects or injection stress. *Brain Res*. 2003, 968:89-101.
- Williams, M.T., Schaefer, T.L., Ehrman, L.A., Able, J.A., Gudelsky, G.A., Sah, R., Vorhees, C.V. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine administration on postnatal day 11 in rats increases pituitary-adrenal output and reduces striatal and hippocampal serotonin without altering SERT activity. *Brain Res*. 2005, 1039(1-2):97-107.
- Whitaker-Azmitia, P.M. Serotonin and brain development: Role in human developmental diseases. *Br Res Bull*. 2001, 56:479-485.
- Whitaker-Azmitia, P.M. Role of the neurotrophic properties of serotonin in the delay of brain maturation induced by cocaine. *Ann N Y Acad Sci*. 1998, 846:158-164.
- Whitaker-Azmitia, P.M., Druse, M., Walker, P., Lauder, J.M. Serotonin as a developmental signal. *Behav Brain Res*. 1996, 73(1-2):19-29.
- White, B.P., Becker-Blease, K.A., Grace-Bishop, K. Stimulant medication use, misuse, and abuse in an undergraduate and graduate student sample. *J Am Coll Health*. 2006, 54(5):261-268.
- Wilson, J.M., Levey, A.I., Bergeron, C., Kalasinsky, K., Ang, L., Peretti, F., Adams, V.I., Smialek, J., Anderson, W.R., Shannak, K., Deck, J., Niznik, H.B., Kish, S.J. Striatal dopamine, dopamine transporter, and vesicular monoamine transporter in chronic cocaine users. *Ann Neurol*. 1996, 40(3):428-439.
- Winslow, J.T., Insel, T.R. Serotonergic modulation of rat pup ultrasonic vocal development: studies with 3,4-methylenedioxymethamphetamine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1990, 254:212-220.
- Winterer, G., Weinberger, D.R. Genes, dopamine and cortical signal-to-noise ratio in schizophrenia. *Trends Neurosci*. 2004, 27(11):683-690.
- Wise, R.A. Forebrain substrates of reward and motivation. *J. Comp. Neurol*. 2005, 493:115-121.
- Wise, R.A. Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. *NIDA Res. Monogr*. 1984, 50:15-33.
- Wise, R.A., Bozarth M.A. A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychol Rev*. 1987, 94(4):469-492.
- Wooters, T.E., Dwoskin, L.P., Bardo, M.T. Age and sex differences in the locomotor effect of repeated methylphenidate in rats classified as high or low novelty responders. *Psychopharmacol*. 2006, 188:18-27.
- Yamaguchi, M., Suzuki, T., Seki, T., Namba, T., Juan, R., Arai, H., Hori, T., Asada, T. Repetitive cocaine administration decreases neurogenesis in adult rat hippocampus. *Ann N Y Acad Sci*. 2004, 1025:351-362.
- Yamamoto, B.K., Nash, J.F., Gudelsky, G.A. Modulation of methylenedioxymethamphetamine-induced striatal dopamine release by the interaction between serotonin and gamma-aminobutyric acid in the substantia nigra. *J Pharmacol Exp Ther*. 1995, 273(3):1063-1070.
- Yamamoto, B.K., Spanos, L.J. The acute effects of methylenedioxymethamphetamine on dopamine release in the awake-behaving rat. *Eur J Pharmacol*. 1988, 148(2):195-203.
- Yan, W., Wilson, C.C., Haring, J.H. 5-HT1a receptors mediate the neurotrophic effect of serotonin on developing dentate granule cells. *Brain Res Dev Brain Res*. 1997, 98(2):185-190.
- Yan, Q.S., Zheng, S.Z., Yan, S.E. Prenatal cocaine exposure decreases brain-derived neurotrophic factor proteins in the rat brain. *Brain Res*. 2004, 1009(1-2):228-233.

- Yang, L., Thornton, S., Grom, A.A. Interleukin-15 inhibits sodium nitroprusside-induced apoptosis of synovial fibroblasts and vascular endothelial cells. *Arthritis Rheum.* 2002, 46(11):3010-3014.
- Yano, M., Beverley, J.A., Steiner, H. Inhibition of methylphenidate-induced gene expression in the striatum by local blockade of D1 dopamine receptors: interhemispheric effects. *Neuroscience.* 2006, 140(2):699-709.
- Yano, M., Steiner, H. Topography of methylphenidate (ritalin)-induced gene regulation in the striatum: differential effects on c-fos, substance P and opioid peptides. *Neuropsychopharmacol.* 2005, 30(5):901-915.
- Yano, M., Steiner, H. Methylphenidate (Ritalin) induces Homer 1a and zif 268 expression in specific corticostriatal circuits. *Neuroscience.* 2005, 132(3):855-865.
- Yano, M., Steiner, H. Methylphenidate and cocaine: the same effects on gene regulation? *Trends Pharmacol Sci.* 2007, 28(11):588-596.
- Yavich, L., Tanila, H., Vepsäläinen, S., Jäkälä, P. Role of alpha-synuclein in presynaptic dopamine recruitment. *J Neurosci.* 2004, 24(49):11165-11170.
- Yeh, S.Y., Hsu, F.L. The neurochemical and stimulatory effects of putative metabolites of 3,4-methylenedioxymphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1999, 39(3):787-790.
- Yu, L.Y., Saarma, M., Arumäe U. Death receptors and caspases but not mitochondria are activated in the GDNF- or BDNF-deprived dopaminergic neurons. *J Neurosci.* 2008, 28(30):7467-7475.
- Zecevic, N., Verney, C. Development of the catecholamine neurons in human embryos and fetuses, with special emphasis on the innervation of the cerebral cortex. *J Comp Neurol.* 1995, 351(4):509-535.
- Zemishlany, Z., Aizenberg, D., Weizman, A. Subjective effects of MDMA ('Ecstasy') on human sexual function. *Eur Psychiatry.* 2001, 16(2):127-130.
- Zetterström, T.S., Pei, Q., Madhav, T.R., Coppell, A.L., Lewis, L., Grahame-Smith, D.G. Manipulations of brain 5-HT levels affect gene expression for BDNF in rat brain. *Neuropharmacol.* 1999, 38(7):1063-1073.
- Zetterström, R.H., Williams, R., Perlmann, T., Olson, L. Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamine system. *Brain Res Mol Brain Res.* 1996, 41(1-2):111-120.
- Zhang, H., Kiyatkin, E.A., Stein, E.A. Behavioral and pharmacological modulation of ventral tegmental dendritic dopamine release. *Brain Res.* 1994, 656(1):59-70.
- Zhang, L.I., Poo, M.M. Electrical activity and development of neural circuits. *Nat Neurosci.* 2001, 4:1207-1214.
- Zhang, Y., Angulo, J.A. Contrasting effects of repeated treatment vs. withdrawal of methamphetamine on tyrosine hydroxylase messenger RNA levels in the ventral tegmental area and substantia nigra zona compacta of the rat brain. *Synapse.* 1996, 24(3):218-223.
- Zhao, M., Momma, S., Delfani K., Carlen M., Cassidy R.M., Johansson C.B., Brismar H., Shupliakov O., Frisen J., Janson A.M. Evidence for neurogenesis in the adult mammalian substantia nigra. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003, 100(13):7925-7930.
- Zheng, K., Heydari, B., Simon, D.K. A common NURR1 polymorphism associated with Parkinson disease and diffuse Lewy body disease. *Arch Neurol.* 2003, 60(5):722-725.
- Zhou, F.C., Sari, Y., Zhang, J.K. Expression of serotonin transporter protein in developing rat brain. *Brain Res. Dev. Brain Res.* 2000, 119:33-45.
- Zhou, F.C., Sari, Y., Zhang, J.K., Goodlett, C.R., Li T. Prenatal alcohol exposure retards the migration and development of serotonin neurons in fetal C57BL mice. *Brain Res Dev Brain Res.* 2001, 126(2):147-155.
- Zhou, J., Shen, Y., Tang, Z., Xu, L., Bradford, H.F., Yu, Y. Striatal extracts promote the survival and phenotypic expression of rat fetal dopaminergic neurons in vitro. *Neurosci Lett.* 2000, 292:5-8.

- Zhou, W., Cunningham, K.A., Thomas, M.L. Estrogen regulation of gene expression in the brain: a possible mechanism altering the response to psychostimulants in female rats. *Brain Res. Mol. Brain Res.* 2002, 100:75-83.
- Zhou, W., Cunningham, K.A., Thomas, M.L. Estrogen effects on the hyperactivity induced by (+)-MDMA and cocaine in female rats. *Behav. Neurosci.* 2003, 117:84-94.
- Zhou, Q.Y., Palmiter, R.D. Dopamine-deficient mice are severely hypoactive, adipsic, and aphagic. *Cell.* 1995, 83(7):1197-1209.
- Zhu, N., Weedon, J., Dow-Edwards, D.L. Oral methylphenidate improves spatial learning and memory in pre- and periadolescent rats. *Behav Neurosci.* 2007, 121(6):1272-1279.
- Zito, J.M., Safer, D.J., dosReis, S., Gardner, J.F., Boles, M., Lynch, F. Trends in the prescribing of psychotropic medications to preschoolers. *JAMA.* 2000, 283(8):1025-1030.
- Zuckerman, L., Rehavi, M., Nachman, R., Weiner, I. Immune activation during pregnancy in rats leads to a postpubertal emergence of disrupted latent inhibition, dopaminergic hyperfunction, and altered limbic morphology in the offspring: a novel neurodevelopmental model of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology.* 2003, 28(10):1778-1789.

<http://afssaps.sante.fr/htm/5/5807c.htm>

<http://www.translatingtime.net>

<http://www.drugabuse.gov/consequences/prenatal>

## **Annexes**

Annexe 1 : Article en soumission dans le journal Brain Research.

« Prenatal MDMA exposure delays postnatal development in the rat. » Heuland E., Galineau L., Germaux M.A., Griebel G., Chalon S., Belzung C.

**Prenatal MDMA exposure delays postnatal development in the rat.**

**Emilie Heuland, Marie-Aure Germaux, Laurent Galineau, Sylvie Chalon, Catherine Belzung.**

**Inserm U930 & IFR 135, Tours, F-37000 France**

**Number of the pages of the whole manuscript: 31**

**Number of Figures: 3**

**Number of Tables: 2**

**\*Corresponding author**

**Adress: Inserm U930 & IFR135, UFR Sciences et Techniques, Parc Grandmont, F-37200 TOURS ; Fax : + 33 2 47 36 72 85 ; Tel + 33 2 47 36 69 94, e-mail : catherine.belzung@univ-tours.fr**

## Abstract

3,4-methylenedioxymethamphetamine or MDMA (ecstasy) is a synthetic illicit drug which is widely consumed throughout the world. Drug abuse during pregnancy may have an impairing effect on the progeny of drug-abusing mothers. The purpose of the present study was to assess the effect of prenatal MDMA exposure on the progeny development, using a rat model. Pregnant animals were injected daily with MDMA (10 mg/kg) between the 13<sup>th</sup> and 20<sup>th</sup> day of gestation. Male and female pups were then tested throughout the lactation period on the appearance and improvement of physical and sensory motor parameters. Appearance of some physical features (eyes opening and incisor eruption) and neurological reflexes as well as improving performances in negative geotaxis, gait and inclined board tests were delayed in pups prenatally exposed to MDMA compared to saline pups. In contrast, functions that are necessary for survival such as forelimb reflex (that enables suckling) were present in both groups. At four weeks of age, MDMA animals recovered to normal level in all studied parameters. The delay in physical and neurological reflexes development could be interpreted as alterations in maturation of some neuronal circuitries induced by prenatal MDMA exposure.

Section: Sensory and Motor systems.

Keywords: 3,4-methylenedioxymethamphetamine; Neurobehavioral development; Prenatal exposure; Reflex.

## **1. Introduction**

The use of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) is constantly increasing among young adults (Parrott, 2002; Banken, 2004; Johnston et al. 2007). Consequently, there is a sensible risk of fetal exposure, all the more so as 80% of pregnancies among women who consume MDMA are unplanned (Ho et al., 2001). The few available studies have reported that infants exposed to MDMA in utero had significantly higher incidences of congenital defects (McElhatton et al. 1999, Draper et al. 2008). Thus, determining whether MDMA influences neurodevelopment of a child is still a critical public health issue. Interpretation of clinical data is difficult because women using MDMA during pregnancy are often multiple drug users (Ho et al, 2001; Gouzoulis-Mayfrank and Daumann, 2006). In addition, numerous preparations may be sold as MDMA or as Ecstasy but do not exclusively contain MDMA (Cole et al. 2002; Tanner-Smith, 2006). Therefore, studies from animal models appear to be necessary to evaluate strict effects of prenatal MDMA exposure on pups.

MDMA administration results in a massive immediate release of serotonin (5-HT), dopamine (DA) and norepinephrine (NE) and subsequently induces 5-HT depletion in multiple brain regions (Lyles and Cadet, 2003; Gudelsky and Yamamoto, 2007; Verrico et al. 2007). As monoaminergic systems have a key role in regulating brain development (Bennett-Clarke et al., 1994; Brezun and Daszuta, 1999; Cases et al., 1996; Levallois et al., 1997; Levitt et al., 1997), exposure to MDMA during prenatal life may affect fetus maturation and have long-term consequences on the functions regulated by these systems. Indeed, it has already been demonstrated some brain monoaminergic systems alterations (Galineau et al., 2005; Koprich et al., 2003; Won et al., 2002, Lipton et al., 2008) as well as behavioral modifications (Thompson et al. 2009; Galineau et al. 2005) in adult rats intoxicated in prenatal period to MDMA.

Some of these long-term modifications could be related to alterations occurring during the early postnatal development period. Indeed, it has already been reported that prenatally MDMA-exposed rats showed a two-fold decrease of whole brain levels of 5-HT at birth (Galineau et al. 2005) and a decrease in the DA metabolite homovanillic acid on postnatal days (P) 3, persisting through P21 in the striatum (Koprach et al. 2003). Based upon these studies, we hypothesized that these modifications of monoaminergic systems in neonate rats produced by prenatal MDMA exposure would lead to neurobehavioral alterations during the pup's postnatal development.

Therefore, we explored the consequences of a chronic administration of MDMA to pregnant rats on the postnatal development of their progeny by neurobehavioral evaluations which are widely used to examine the potential neurotoxicity of drugs. We chose to expose pregnant rats to MDMA from the 13<sup>th</sup> to 20<sup>th</sup> gestational day. With regard to human brain development, this corresponds approximately to the period from the second month to the end of the first half of pregnancy which is characterized by the appearance and establishment of DA and 5-HT system brain (Herlenius and Lagercrantz, 2004; Sundstrom et al. 1993). The administered dose, i.e. 10 mg/kg/day, referred to the method of interspecies scaling allowing estimating it equivalent to that used by humans (Lin, 1998). Postnatal development is reflected among others by maturation of neurological reflexes, physical development and motor coordination, which are all hallmarks of nervous system development (Altman and Sudarshan, 1975). We quantified the physical development and the sensory-motor maturation with a Fox's battery adapted for rats (Fox, 1965).

## **2. Results**

### **2.1. Litter characteristics:**



MDMA exposed rat dams gained less weight than saline dams from G13 to G20 ( $t_{10}=12.96$ ,  $p=0.004$ ). When saline dams weight increased by 25% during the treatment period, weight of MDMA dams increased only by 14%. Among the seven females treated with MDMA, two aborted or were not pregnant, while all NaCl females gave birth. Nevertheless, there was no significant effect of maternal MDMA administration on average litter size and on gender distribution, neither in pups body weight at birth (Table 1). No gross malformations were observed in pups from either treatment group.

## **2.2. Postnatal maturation**

### **2.2.1. Physical development**

As shown in Table 2, the day of apparition of physical characteristics in rats from the MDMA group was delayed. A two-way ANOVA in saline and MDMA groups indicated a main effect of prenatal exposure on eyes opening ( $F_{1,20}=12.92$ ,  $p=0.001$ ) and on incisor eruption ( $F_{1,20}=9.00$ ,  $p=0.007$ ), but no effect of gender and prenatal exposure X gender interaction. Duncan post hoc comparisons revealed a significant delay with males and females exposed to MDMA compared to controls in the apparition of eyes opening and only with males in the incisor eruption.

### **2.2.2. Reflexes and motor development**

#### **Limb grasp and crossed extensor reflex**

A two-way ANOVA on appearance of hindlimb grasp reflex in saline and MDMA groups indicated a main effect of the prenatal exposure ( $F_{1,20}=20.1$ ,  $p=0.0002$ ). Since this main effect includes both sexes, a posteriori comparison was used to investigate whether an effect of prenatal MDMA exposure is maintained in both male and female pups. Actually, hindlimb grasp reflex was delayed in both genders. Furthermore, it was revealed that

prenatal exposure had a significant effect on the extensor reflex ( $F_{1,20}=12.12$ ,  $p=0.002$ ). When this effect was investigated for each gender, the delayed appearance of this reflex was only significant in female pups. No significant main effect of the prenatal exposure was observed on the appearance of forelimb grasp reflex. There was no main effect of gender or gender X prenatal exposure interaction in the both hindlimb and forelimb grasp reflexes as well in extensor reflex. Results are shown in Table 2.

### Righting reflex

A three-way (prenatal exposure X gender X postnatal day, with repeated measures on the last factor) ANOVA on righting reflex in both saline and MDMA groups revealed a postnatal day effect ( $F_{12,240}=11.18$ ,  $p<0.0001$ ), but no effect of prenatal exposure and gender or prenatal exposure X gender interaction, showing that the time needed by the pups to achieve the righting reflex decreased with age with no difference between groups (data not shown).

### Negative geotaxis

Results of negative geotaxis are presented in Table 2 and in Fig. 1. Appearance of this reflex (20° and 45°) was significantly later in pups prenatally exposed to MDMA compared to normal pups (main prenatal exposure effect,  $F_{1,20}=9.45$ ,  $p=0.006$  and  $F_{1,20}=7.41$ ,  $p=0.013$ , for 20° and 45° respectively). When this effect was analyzed individually for both genders, differences in 20°- tilted board reached the statistical limit for males, whereas in 45°-tilted board a significant delay was only observed for females. No main effect of gender or prenatal exposure X gender interaction was revealed (Table 2).

To assess the evolution of performance in negative geotaxis reflex, a three-way ANOVA with repeated measures on postnatal day was performed. On 20° negative geotaxis,

a main effect of prenatal exposure ( $F_{1,20}=9.45$ ,  $p=0.006$ ) and postnatal days ( $F_{4,80}=20.82$ ,  $p<0.0001$ ) as well as a prenatal exposure X postnatal day interaction ( $F_{4,80}=3.80$ ,  $p=0.007$ ) were revealed from P7 to P11 (Fig. 1A). Similar results were found in 45° negative geotaxis performance from P10 to P15, with a main effect of prenatal exposure ( $F_{1,18}=6.47$ ,  $p=0.020$ ) and postnatal days ( $F_{5,90}=19.58$ ,  $p<0.0001$ ) as well as a prenatal exposure X postnatal day interaction ( $F_{5,90}=4.50$ ,  $p=0.001$ ) (Fig. 1B).

Subsequent ANOVA realized for each day indicated a main effect of prenatal exposure only at P8 ( $F_{1,20}=20.06$ ,  $p=0.0002$ ) in 20° negative geotaxis, which was maintained for both the male and the female groups. In the same manner for 45° negative geotaxis, MDMA animals displayed lower performance at P11 and P12 (main prenatal exposure effect:  $F_{1,20}=11.78$ ,  $p=0.0026$  and  $F_{1,20}=13.57$ ,  $p=0.0015$ , respectively), with a significance sustained for both the male and female groups. No main effect of gender or prenatal exposure X gender interaction was revealed for each day in the two paradigms of negative geotaxis.

#### Inclined board test

From P10 to P28, improvement in inclined board test was lower in animals prenatally exposed to MDMA. A three-way ANOVA on angle before falling indicated a main effect of prenatal exposure ( $F_{1,20}=20.55$ ,  $p=0.0002$ ) and postnatal days ( $F_{7,140}=62.73$ ,  $p<0.0001$ ) and also a prenatal exposure X postnatal days interaction ( $F_{7,140}=2.21$ ,  $p=0.037$ ). Subsequent two-way ANOVA performed on each day showed a main effect of prenatal exposure at P11 ( $F_{1,20}=13.03$ ,  $p=0.001$ ), at P12 ( $F_{1,20}=22.66$ ,  $p=0.0001$ ), at P13 ( $F_{1,20}=8.21$ ,  $p=0.009$ ), at P14 ( $F_{1,20}=12.50$ ,  $p=0.002$ ), at P17 ( $F_{1,20}=5.42$ ,  $p=0.030$ ) and at P21 ( $F_{1,20}=4.37$ ,  $p=0.049$ ). Further indications concerning the effects observed in each gender can be found

on the Fig. 2. No main effect of gender and prenatal exposure X gender interaction was displayed.

### Gait

A two-way ANOVA on the appearance of gait reflex in saline and MDMA groups showed a main effect of prenatal exposure ( $F_{1,20}=6.35$ ,  $p=0.020$ ), but no effect of gender and prenatal exposure X gender interaction. Post hoc comparisons revealed a significant delay on the appearance of gait reflex only for the males (Table 2).

From P10 to P19, a three-way ANOVA on gait reflex revealed a main effect of prenatal exposure ( $F_{1,19}=10.23$ ,  $p=0.004$ ), and postnatal days ( $F_{9,171}=11.37$ ,  $p<0.0001$ ). No gender effect and no interaction was observed. Subsequent ANOVAs for each day indicated that animals prenatally exposed to MDMA took significantly more time to move out of the circle than controls at P10 and P12 (main prenatal exposure effect respectively:  $F_{1,19}=8.00$ ,  $p=0.011$  and  $F_{1,19}=5.19$ ,  $p=0.034$ ). When prenatal exposure effect was analyzed individually in both genders, it was only statistically significant for male groups at P12. Results are presented in Fig. 3.

### **3. Discussion**

The vulnerability of the developing brain to toxic insults is dependant on the drug and on the stage of development of the potential target organ or system. Damage to a particular structure in the circuit or to connecting pathways in the developing nervous system can produce structural and functional changes that result in behavioral alterations (Costa et al. 2004; Ricceri et al. 2007).

In this study, we showed that prenatal MDMA exposure produced a retarded neurobehavioral development in pups, which was characterized by delayed appearance of

physical features (eyes opening and incisors eruption) and some neurological reflexes (hindlimb grasp and crossed extensor reflex), and by retarded sensorimotor development, assessed by negative geotaxis, gait reflex and inclined board performance.

The normal motor development of limbs follows a rostrocaudal gradient in which forelimb placement and grasp precedes hindlimb skills (Altman and Sudarshan 1975). From a functional point of view, the early maturation of forelimb coordination can be related to the vital necessity of locating and maintaining a suckling station (Altman and Sudarshan, 1975); forward progression is not essential at this stage of development, as the mother tends to retrieve the young. In our study, although forelimb grasp reflex was similar in both MDMA and saline pups, the appearance of hindlimb motor reflex (hindlimb grasp, crossed extensor) was retarded in animals prenatally exposed to MDMA. Thus, prenatal exposure to MDMA caused a delay of the rostro-caudal maturation, without affecting forelimb coordination. Therefore, no delay in the characteristics essential to vital function was observed.

As unlearned responses to gravitational cues, negative geotaxis and righting reflex are considered diagnostic of vestibular and/or proprioceptive function (Motz and Alberts, 2005; Ronca and Alberts 2000). There was no difference in righting reflex between normal and MDMA pups, whereas the appearance of negative geotaxis behavior was significantly delayed in MDMA animals. Interestingly, the neurodevelopmental profile of negative geotaxis can be overlaid on that of gait reflex which was delayed in the same manner. Improvements in these two reflexes were slower in both male and female MDMA pups as measured by the time needed to achieve the reflex. Gait reflex was slower at day 12 and 45° geotaxis at days 11 and 12. However, from the end of the second postnatal week, differences between saline and MDMA groups disappeared in both reflexes. Thus, sensory and motor reflexes were altered by prenatal MDMA exposure, but treated pups showed a total recovery

that could be due to high degree of plasticity of neonatal rat brain (Vaccarino and Ment, 2004).

Motor coordination/strength assessed in inclined board test was also reduced from P11 in male and female rats prenatally exposed to MDMA compared to controls. Performances in this test were still altered at three weeks in MDMA male pups, which only recovered to normal levels at 4 weeks of age. This confirms that deficits found in pups prenatally exposed to MDMA, are still present at P21, as already shown by Koprach et al. (2003).

In appearance, our results are inconsistent with the work of St Omer et al. (1991) which showed that 2.5 or 10 mg/kg MDMA administered by gavage during gestation on gestational days 6-18 did not lead to alterations in maturational parameters (eye opening and incisor eruption times), surface righting reflex, swimming performance, forelimb grip strength, passive avoidance behaviour, and figure-8 maze activity, in neonates pups (St Omer et al. 1991). However, dose, route, period and frequency of MDMA administration as well as the strain used were different between our two studies and could explain these discrepant results.

MDMA has several actions on the mother and on the fetus that could explain the delay in physical and sensory motor development observed in prenatally MDMA-treated rats. MDMA administration to adult rats induces an acute and rapid release of 5-HT from presynaptic vesicles, followed by a decrease in 5-HT concentration in brain tissue during the first few hours following drug administration (Lyles and Cadet, 2003). Neurochemical and anatomical studies initially reported long-term reductions in markers of 5-HT systems in adult rats (Commins et al. 1987; Molliver et al. 1990; O'Hearn et al. 1988; Schmidt et al. 1986). As it appears that MDMA is able to reach the fetal compartment (Campbell et al., 2006), and is known to act mainly on 5-HT transporters (Verrico et al. 2007) that are present

in rat brain from embryonic day 12 (Zhou et al., 2000), it can be suggested that serotonergic systems during prenatal period may be affected directly by this drug. Indeed, previous studies have already underlined neurochemical alterations in 5-HT circuits of neonate rats following prenatal MDMA exposure (Galineau et al., 2005; Koprach et al. 2003). It is well established that serotonin acts on cerebral maturation including myelinisation, neurogenesis and synaptogenesis (Levallois et al., 1997; Whitaker-Azmitia, 2001). Moreover, serotonergic systems are known to be involved in normal vestibular function since vestibular regions receive serotonergic innervations (Cransac et al. 1996; Gil-Loyzaja et al. 1997), in facial development (Borella et al. 1997) and in the ontogeny of sensory and motor reflexes (de Souza et al. 2004; Vinay et al. 2005). Therefore, the delay in facial development characterized by a retarded eye opening and teeth eruption, in vestibular function and motor maturation found in MDMA prenatally exposed pups, could be caused by altered serotonergic system function.

Second, the prenatal MDMA exposure may have an indirect action on the fetus via the effects induced on the mother during pregnancy. Indeed, MDMA administration to adult rat produces vasoconstrictive (Fitzgerald and Reid 1994), anorectic (Kobeissy et al. 2008) and anxiogenic (Gurtman et al. 2002) effects. These could indirectly be involved in the altered fetal development since it has been suggested that in utero hypoxia-ischemia injury, maternal anorexia or stress can lead to neurodevelopmental modifications in pups (Derrick et al. 2004; Patin et al. 2004). The maternal body weight gain between the 13<sup>th</sup> and the 20<sup>th</sup> day of gestation was 15% decreased in MDMA dams in comparison to the saline-injected females. Similar reductions in maternal weight gain have been reported following various MDMA treatment of pregnant rats (Koprach et al. 2003, Colado et al. 1997; St Omer et al 1991, Won et al. 2002, Heuland et al. 2008). This physical consequence could be due to the anorectic and/or anxiogenic effect induced by MDMA in pregnant rats. However, this

reduction in maternal weight gain did not produce detrimental effects with respect to the number of pups at birth, their body weight and male/female ratio and did not result in gross malformations. The administration of MDMA could also induce a dysregulation of the animal body temperature, this being highly dependant upon the ambient temperature (Green et al., 2005). Another hypothesis as to the effects we observed is related to an action on the mother after the pups' birth. Administration of MDMA can act on the maternal behavior or development delay can act on the maternal behavior. These hypotheses are not exclusive and would need more investigation.

Whatever the underlying mechanism, we demonstrate that prenatal MDMA exposure delays the appearance of some physical features and transiently impairs the acquisition of reflexes and motor coordination. The delay could be interpreted as alterations in maturation of some neuronal circuitries. In the rat, the first 2 weeks after birth constitute the period of the brain spurt, a critical phase in neurobehavioral maturation, which likely corresponds to the last months of human fetus brain growth (Dobbing and Sands, 1973; Bayer et al. 1993). During this period, successful accomplishment of normal brain development under good conditions may be a prerequisite for subsequent satisfactory brain functioning. Thus, it is still possible that these alterations during postnatal development may have repercussions in later in life and could be related to some functional modifications observed in adulthood.

#### **4. Experimental Procedure**

##### **4.1. Animals and protocol of drug exposure:**

Timed pregnant Wistar rats purchased from CERJ (Le Genest, France) were received at the laboratory on gestational day 6 (G6). Animals were housed in a temperature-controlled room ( $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) under a 12h light/dark cycle (lights on at 6:00 a.m. and off at 6:00 p.m.) and had free access to food and water. Drug exposure was started after an



acclimatization period of 7 days. The experimental group comprised of 7 females which were subcutaneously injected with 10 mg/kg ( $\pm$ )-3,4-methylenedioxymethamphetamine HCl (MDMA; Sigma Aldrich) per day from G13 to G20. The control group was constituted of 7 females subcutaneously injected with saline (NaCl 0.9%) at the same time and within the same period. Injection sites were varied to minimize local cutaneous inflammation. Dams were weighted daily and data were expressed in percent of weight gain during treatment period [i.e. (G20 – G13)/G13 X 100]. At the birth (P0), progeny was counted, weighted, sex typed and culled to 10 per litter.

All procedures described here fully comply with French legislation on research involving animal subjects. This research protocol adhered to recommendations by the European Community Council for ethical Treatment of Animals (n°86/609/EEC).

## **4.2. Pup development**

The Fox's battery permits the assessment of normal and pathological development of the young rat (Altman and Sudarshan, 1975; Chevalet and al., 1988; Lubics et al., 2005) and is an index of the cerebral maturation. One male and one female per litter were used in neurobehavioral tests performed daily from P2 to P21 between 08:30 and 11:00 p.m, corresponding to the rats' active period. These pups were taken out of the cage to be tested and returned to the cage with the mother and their sisters/brothers after each test session.

### **4.2.1. The maturation of physical characteristics:**

Observations were made daily to assess maturation of physical characteristics. The days the animals presented their two eyes opened and their two incisors erupted were noted.

### **4.2.2. Reflexes and motor coordination tests:**

### Limb grasp

The fore- and hindlimbs were touched with a thin rod, and the first day of grasping onto the rod was recorded.

### Crossed extensor reflex

The left rear paw was pinched and the animal was observed for the extension of the right leg. The day of disappearance of this crossed extensor reflex was noted.

### Righting reflex

When the neonates are placed supine, they immediately turn over their longitudinal axis to restore a normal prone position (righting reflex). This test was carried out daily from P1 to P13. It was considered to be fully achieved when the pups turned 180° around their longitudinal axis, their four paws being in contact with the plane surface within the observed 120 sec. The time needed to achieve the righting reflex was measured.

### Negative geotaxis

Negative geotaxis is a postural reaction bringing the animal in the upright position when it is placed downwards. In our experiment, the rat pups were placed on a 20° and 45°-tilted plane with its head pointing down. The animals had to turn around and crawl up the slope for 180° in order to bring their snout upwards and climb up the board with their forelimbs reaching the upper rim. In cases the animals did not succeed at this task within the observed 60 sec, the test was considered negative. The day of appearance of geotaxis and the time to reach the upper end of the board were recorded. The tests on 20°- and 45°- titled plane were made daily from P4 to P11 and from P9 to P16, respectively.

### Inclined board test

Animals were placed on a wooden board, and the board was gradually elevated by 5°. The maximum angle at which the animals could maintain position on the inclined board for 5 sec was recorded daily from P10 to P14 and at P17, P21 and P28.

### Gait

The animals were placed in the middle of a white paper circle of 13cm in diameter, and we recorded the day they began to move outside the circle with the two forelimbs in less than 30 seconds. From this day, the time (sec) to move off the circle was noted daily until P19.

### **4.3. Statistical analysis:**

Percent of body weight gain of pregnant rats, the litter size as well as the pup body weight at birth were compared between the MDMA and saline groups using an unpaired Student's t-test. Results in appearance of physical and neurological signs were compared with a two-way ANOVA (saline vs MDMA exposure X male and female). Improvement in daily performance in righting reflex, negative geotaxis, inclined board test and gait were evaluated by a three-way ANOVA with repeated measures on postnatal days, while daily values were compared by subsequent two-way ANOVA. If a significant *F* value of  $p < 0.05$  was obtained, Duncan's test multiple comparison analysis was conducted.

## **Acknowledgements**

Authors are thankful to Raymond Jegat who designed the apparatus used.

## Literature references

- Altman, J., Sudarshan, K., 1975. Postnatal development of locomotion in the laboratory rat. *Anim Behav.* 23, 896-920.
- Banken, J.A., 2002. Drug abuse trends among youth in the United States. *Ann N Y Acad Sci.* 1025, 465-471.
- Bayer, S.A., Altman, J., Russo, R.J., Zhang, X., 1993. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat. *Neurotoxicol.* 14, 83-144.
- Bennett-Clarke, C.A., Leslie, M.J., Lane, R.D., Rhoades, R.W., 1994. Effect of serotonin depletion on vibrissae-related patterns of thalamic afferents in the rat's somatosensory cortex. *J Neurosci.* 14, 7594-7607.
- Borella, A., Bindra, M., Whitaker-Azmitia, P.M., 1997. Role of the 5-HT<sub>1A</sub> receptor in development of the neonatal rat brain: preliminary behavioral studies. *Neuropharmacology.* 36, 445-450.
- Brezun, J.M., Daszuta, A., 1999. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience.* 89, 999-1002.
- Campbell, N.G., Koprich, J.B., Kanaan, N.M., Lipton, J.W., 2006. MDMA administration to pregnant Sprague-Dawley rats results in its passage to the fetal compartment. *Neurotoxicol Teratol.* 28, 459-465.
- Cases, O., Vitalis, T., Seit, I., De Maeyer, E., Sotelo, C., Gaspar, P., 1996. Lack of Barrels in the somatosensory cortex of monoamine oxidase A-deficient mice: role of a serotonin excess during the critical period. *Neuron.* 16, 297-307.
- Chevalet, P., Le Pape, G., Lassale, J.M., 1988. Développement comportemental avant le sevrage chez la souris : Méthodes et technique de mesure et d'analyse. *Sci Tech Anim Lab.* 13, 157-168.
- Colado, M.I., O'Shea, E., Granados, R., Misra, A., Murray, T.K., Green, A.R., 1997. A study of neurotoxic effect of MDMA ('ecstasy') on 5-HT neurones in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. *Br J Pharmacol.* 121, 827-833.
- Costa, L.G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T., Soldin, O.P., 2004. Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 44, 87-110.
- Cransac, H., Cottet-Emard, J.M., Pequignot, J.M., Peyrin, L., 1996. Monoamines (norepinephrine, dopamine, serotonin) in the rat medial vestibular nucleus: endogenous levels and turnover. *J Neural Transm.* 103, 391-401.
- Cole, J.C., Bailey, M., Sumnall, H.R., Wagstaff, G.F., King, L.A., 2002. The content of ecstasy tablets: implications for the study of their long-term effects. *Addiction.* 97, 1531-1536.

Commins, D.L., Vosmer, G., Virus, R.M., Woolverton, W.L., Schuster, C.R., Seiden, L.S., 1987. Biochemical and histological evidence that methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) is toxic to neurons in the rat brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 241, 338-345.

Derrick, M., Luo, N.L., Bregman, J.C., Jilling, T., Ji, X., Fisher, K., Gladson, C.L., Beardsley, D.J., Murdoch, G., Back, S.A., Tan, S., 2004. Preterm fetal hypoxia-ischemia causes hypertonia and motor deficits in the neonatal rabbit: a model for human cerebral palsy? *J Neurosci.* 24, 24-34.

de Souza, S.L., Nogueira, M.I., de Jesus Deiró, T.C., de Castro, F.M., da Silva, C.M., da Silva, M.C., de Lira, L.O., Azmitia, E.C., de Castro, R.M., 2004. Differential effects on somatic and reflex development by chronic clomipramine treatment. *Physiol Behav.* 82, 375-379.

Dobbing, J., Sands, J., 1973. Quantitative growth and development of human brain. *Arch Dis Child.* 48, 757-767.

Draper, E.S., Rankin, J., Tonks, A.M., Abrams, K.R., Field, D.J., Clarke, M., Kurinczuk, J.J., 2008. Recreational drug use: a major risk factor for gastroschisis? *Am J Epidemiol.* 167, 485-491.

Fitzgerald, J.L., Reid, J.J., 1994. Sympathomimetic actions of methylenedioxymethylamphetamine in rat and rabbit isolated cardiovascular tissues. *J Pharm Pharmacol.* 46, 826-832.

Fox, W.M., 1965. Reflex ontogeny and behavioural development of the mouse. *Anim Behav.* 13, 234-241.

Galineau, L., Belzung, C., Kodas, E., Bodard, S., Guilloteau, D., Chalon, S., 2005. Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) exposure induces long-term alterations in dopaminergic and serotonergic functions in the rat. *Brain Res Dev Brain Res.* 154, 165-176.

Gil-Loyzaga, P., Vicente-Torres, M.A., García-Bonacho, M., Esquifino, A., 1997. Presence of catecholamines and serotonin in the rat vestibule. *Brain Res.* 746, 265-268.

Gouzoulis-Mayfrank, E., Daumann, J., 2006. The confounding problem of polydrug in recreational ecstasy/MDMA users: a brief overview. *J Psychopharmacol.* 20, 188-193.

Green, A.R., O'Shea, E., Saadat, K.S., Elliott, J.M., Colado, M.I., 2005. Studies on the effect of MDMA ('ecstasy') on the body temperature of rats housed at different ambient room temperatures. *Br J Pharmacol.* 146, 306-312.

Gudelsky, G.A., Yamamoto, B.K., 2008. Actions of 3,4-methylenedioxymethylamphetamine (MDMA) on cerebral dopaminergic, serotonergic and cholinergic neurons. *Pharmacol Biochem Behav.* 90, 198-207.

Gurtman, C.G., Morley, K.C., Li, K.M., Hunt, G.E., McGregor, I.S., 2002. Increased anxiety in rats after 3,4-methylenedioxymethylamphetamine: association with serotonin depletion. *Eur J Pharmacol.* 446, 89-96.

- Herlenius, E., Lagercrantz, H., 2004. Development of neurotransmitter systems during critical periods. *Exp Neurol.* 190, 8-21.
- Ho, E., Karimi-Tebesh, L., Koren, G., 2001. Characteristics of pregnant women who use ecstasy (3,4-methylenedioxymethamphetamine). *Neurotoxicol Teratol.* 23, 561-567.
- Johnston, L.D., O'Malley, P.M., Bachman, J.G., Sculenberg, J.E., 2007. Monitoring the future: National results on adolescent drug abuse: Overview of key findings, 2006. NIH Publication Number 07-6202, National Institute on drug abuse, Bethesda, MD.
- Kelly, P.A., Ritchie, I.M., Quate, L., McBean, D.E., Olverman, H.J., 2002. Functional consequences of perinatal exposure to 3,4-methylenedioxymethamphetamine in rat brain. *Br J Pharmacol.* 137, 963-970.
- Kobeissy, F.H., Jeung, J.A., Warren, M.W., Geier, J.E., Gold, M.S., 2008. Changes in leptin, ghrelin, growth hormone and neuropeptide-Y after an acute model of MDMA and methamphetamine exposure in rats. *Addict Biol.* 13, 15-25.
- Koprich, J.B., Chen, E.Y., Kanaan, N.M., Campbell, N.G., Kordower, J.H., Lipton, J.W., 2003. Prenatal 3,4-methylenedioxymethamphetamine (ecstasy) alters exploratory behaviour, reduces monoamine metabolism, and increases forebrain tyrosine hydroxylase fiber density of juvenile rats. *Neurotoxicol Teratol.* 25, 509-517.
- Levallois, C., Valence, C., Baldet, P., Privat, A., 1997. Morphological and morphometric analysis of serotonin-containing neurons in primary dissociated cultures of human rhombencephalon : a study of development. *Brain Res Dev Brain Res.* 99, 243-252.
- Levitt, P., Harvey, J.A., Friedman, E., Simansky, K., Murphy, E.H., 1997. New evidence for neurotransmitter influences on brain development. *Trends Neurosci.* 20, 269-274.
- Lin, J.H., 1998. Applications and limitations of interspecies scaling and in vitro extrapolation in pharmacokinetics. *Drug Metab Dispo.* 26, 1202-1212.
- Lubics, A., Reglodi, D., Tamas, A., Kiss, P., Szalai, M., Szalontay, L., Lengvari, I., 2005. Neurological reflexes and early motor behaviour in rats subjected to neonatal hypoxic-ischemic injury. *Behav Brain Res.* 157, 157-165.
- Lyles, J., Cadet, J.L., 2003. Methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy) neurotoxicity: cellular and molecular mechanisms. *Brain Res Brain Res Rev.* 42, 155-168.
- McElhatton, P.R., Bateman, D.N., Evans, C., Pughe, K.R., Thomas, S.H., 1999. Congenital anomalies after prenatal ecstasy exposure. *Lancet.* 354, 1141-1142.
- Molliver, D.C., Molliver, M.E., 1990. Anatomic evidence for a neurotoxic effect of (+/-)-fenfluramine upon serotonergic projections in the rat. *Brain Res.* 511, 165-168.
- Motz, B.A., Alberts, J.R., 2005. The validity and utility of geotaxis in young rodents. *Neuroteratol Toxicol.* 27, 529-533.
- O'Hearn, E., Battaglia, G., De Souza, E.B., Kuhar, M.J., Molliver, M.E., 1988. Methylenedioxyamphetamine (MDA) and methylenedioxymethamphetamine (MDMA)

cause selective ablation of serotonergic axon terminals in forebrain: immunocytochemical evidence for neurotoxicity. *J Neurosci.* 8, 2788-2803.

Parrott, A.C., 2002. Recreational ecstasy/MDMA, the serotonin syndrome, and serotonergic neurotoxicity. *Pharmacol Biochem Behav.* 71, 837-844.

Patin, V., Vincent, A., Lordi, B., Caston, J., 2004. Does prenatal stress affect the motoric development of rat pups? *Brain Res Dev Brain Res.* 149, 85-92.

Ramamoorthy, J.D., Ramamoorthy, S., Leibach, F.H., Ganapathy, V., 1995. Human placental monoamine transporters as targets for amphetamines. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 173, 1782-1787.

Ricceri, L., Moles, A., Crawley, J., 2007. Behavioral phenotyping of mouse models of neurodevelopmental disorders: relevant social behavior patterns across the life span. *Behav Brain Res.* 176, 40-52.

Ronca, A.E., Alberts J.R., 2000. Effects of prenatal spaceflight on vestibular responses in neonatal rats. *J Appl Physiol.* 89, 2318-2324.

Smart, J.L., Dobbing, J., Adlard, B.P., Lynch, A., Sands, J., 1973. Vulnerability of developing brain: relative effects of growth restriction during the fetal and suckling periods on behavior and brain composition of adult rats. *J Nutr.* 103, 1327-1338.

Schmidt, C.J., Wu, L., Lovenberg, W., 1986. Methylenedioxymethamphetamine: a potentially neurotoxic amphetamine analogue. *Eur J Pharmacol.* 124, 175-178.

Sundström, E., Kölare, S., Souverbie, F., Samuelsson, E.B., Pschera, H., Lunell, N.O., Seiger, A., 1993. Neurochemical differentiation of human bulbospinal monoaminergic neurons during the first trimester. *Brain Res Dev Brain Res.* 75, 1-12.

St Omer, V.E., Ali, S.F., Holson, R.R., Duhart, H.M., Scalzo, F.M., Slikker, W.Jr., 1991. Behavioral and neurochemical effects of prenatal methylenedioxymethamphetamine (MDMA) exposure in rats. *Neurotoxicol Teratol.* 13, 13-20.

Tanner-Smith, E.E., 2006. Pharmacological content of tablets sold as "ecstasy": results from an online testing service. *Drug Alcohol Depend.* 83, 247-254.

Vaccarino, F.M., Ment, L.R., 2004. Injury and repair in developing brain. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Eds.* 89, 190-192.

Verrico, C.D., Miller, G.M., Madras, B.K., 2007. MDMA (Ecstasy) and human dopamine, norepinephrine, and serotonin transporters: implications for MDMA-induced neurotoxicity and treatment. *Psychopharmacology.* 189, 489-503.

Vinay, L., Ben-Mabrouk, F., Brocard, F., Clarac, F., Jean-Xavier, C., Pearlstein, E., Pflieger, J.F., 2005. Perinatal development of the motor systems involved in postural control. *Neural Plast.* 12, 131-139.

Whitaker-Azmitia, P.M., 2001. Serotonin and brain development: role in human developmental diseases. *Brain Res Bull.* 56, 479-485.



Williams, M.T., Brown, C.A., Skelton, M.R., Vinks, A.A., Vorhees, C.V., 2004. Absorption and clearance of  $\pm$  3,4-methylenedioxymethamphetamine from the plasma of neonatal rats. *Neurotoxicol Teratol.* 26, 849-856.

Won, L., Bubula, N., Heller, A., 2002. Fetal exposure to ( $\pm$ )methylenedioxymethamphetamine in utero enhances the development and metabolism of serotonergic neurons in three-dimensional reaggregate tissue culture. *Brain Res Dev Brain Res.* 137, 67-73.

Zhou, F.C., Sari, Y., Zhang, J.K., 2000. Expression of serotonin transporter protein in developing rat brain. *Brain Res Dev Brain Res.* 119, 33-45.

Table 1

Maternal weight gain and litter size.

	Prenatal treatment	
	Saline (n=7)	MDMA (n=5)
Dams during pregnancy		
Weight gain (%) G13-20	25.1 $\pm$ 1.8	14.5 $\pm$ 2.4**
Litter characteristics at birth		
Total number of neonates	11.3 $\pm$ 1.4	12.0 $\pm$ 0.5
Male/female ratio	1.3 $\pm$ 0.5	1.1 $\pm$ 0.2
Weight (g)	7.55 $\pm$ 0.21	7.56 $\pm$ 0.19

Pregnant dams were treated daily with MDMA (10 mg/kg) or saline from gestational day (GD) 13 to 20.

Maternal weight gain is expressed as a percentage of the increase in weight from GD 13 to 20 (i.e. [(GD 20 – GD 13)/GD 13]x100). The values represent the mean  $\pm$  S.E.M. \*\* p<0.01, significantly different from saline (t-test).

Table 2

Appearance of physical and neurological signs in control or prenatally MDMA-exposed male and female rats.

	Days of appearance			
	Male		Female	
	Saline	MDMA	Saline	MDMA
Eye opening	15.1±0.3	16.2±0.2*	15.3±0.2	16.0±0.3*
Incisor eruption	9.4±0.3	11.2±1.0*	9.4±0.2	11.0±0.8
Forelimb grasp	1.1 ± 0.1	1.6 ± 0.4	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.3
Hindlimb grasp	2.6 ± 0.2	4.0 ± 0.4**	2.6 ± 0.2	4.0 ± 0.4**
Crossed extensor reflex	11.3 ± 0.5	12.2 ± 0.4	10.7 ± 0.2	12.6 ± 0.5**
Negative geotaxis 20°	7.1 ± 0.5	9.0 ± 0.7*	7.3 ± 0.3	8.8 ± 0.8
Negative geotaxis 45°	10.4 ±0.3	11.6 ± 0.6	10.6 ± 0.4	12.0 ± 0.6*
Gait reflex	10.0 ± 0	11.6 ± 0.7*	10.6 ± 0.4	11.0 ± 0.4

Data represent the mean ± S.E.M. days of appearance. \*p<0.05, \*\*p<0.01, significantly different from saline (Duncan's test).

## Figures

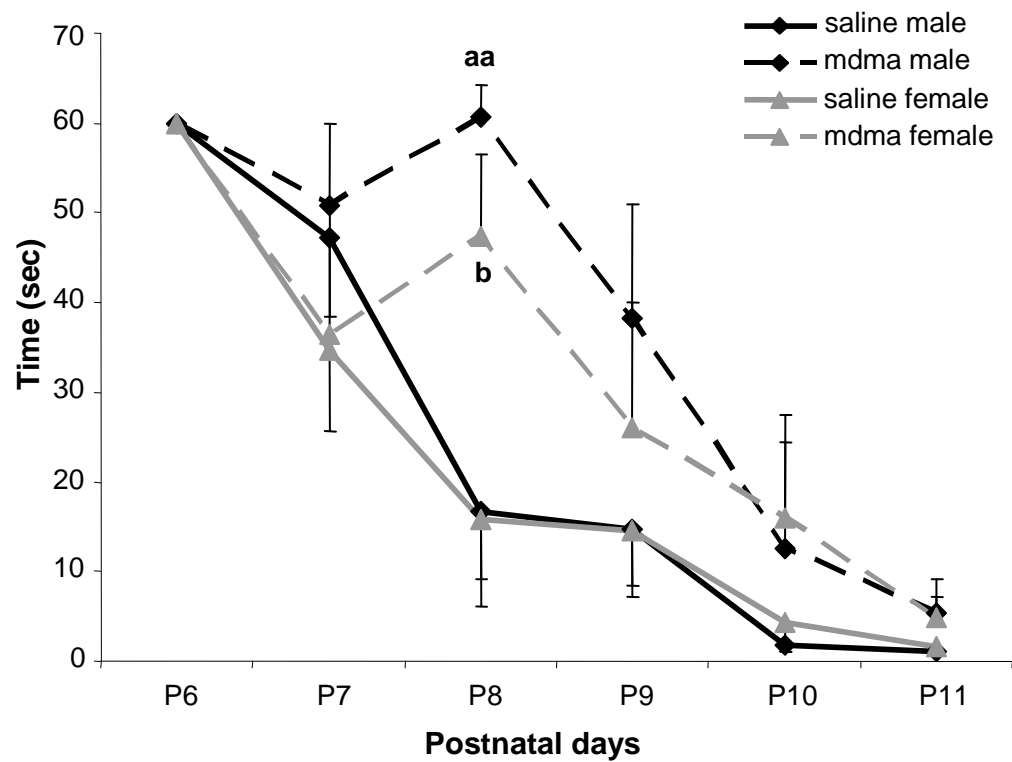
Fig. 1. Effect of prenatal MDMA exposure on daily performance in negative geotaxis in 20° (A) and 45° (B) -tilted board of male and female pups. Results are expressed as the mean time in seconds to achieve this reflex  $\pm$  S.E.M. **a**  $p < 0.05$ ; **aa**  $p < 0.01$  significantly different from male saline group, **b**  $p < 0.05$  significantly different from female saline group (Duncan's test).

Fig. 2. Effect of prenatal MDMA exposure on daily performance in the inclined board test of male and female pups. Results are expressed as the mean angle  $\pm$  S.E.M. **a**  $p < 0.05$  significantly different from male saline group, **b**  $p < 0.05$ , **bb**  $p < 0.01$  significantly different from female saline group (Duncan's test).

Fig. 3. Effect of prenatal MDMA exposure on daily performance of gait reflexes of male and female pups. Results are expressed as the mean time in second to achieve this reflex  $\pm$  S.E.M. **a**  $p < 0.05$  significantly different from male saline group (Duncan's test).

Figure 1

(A)



(B)

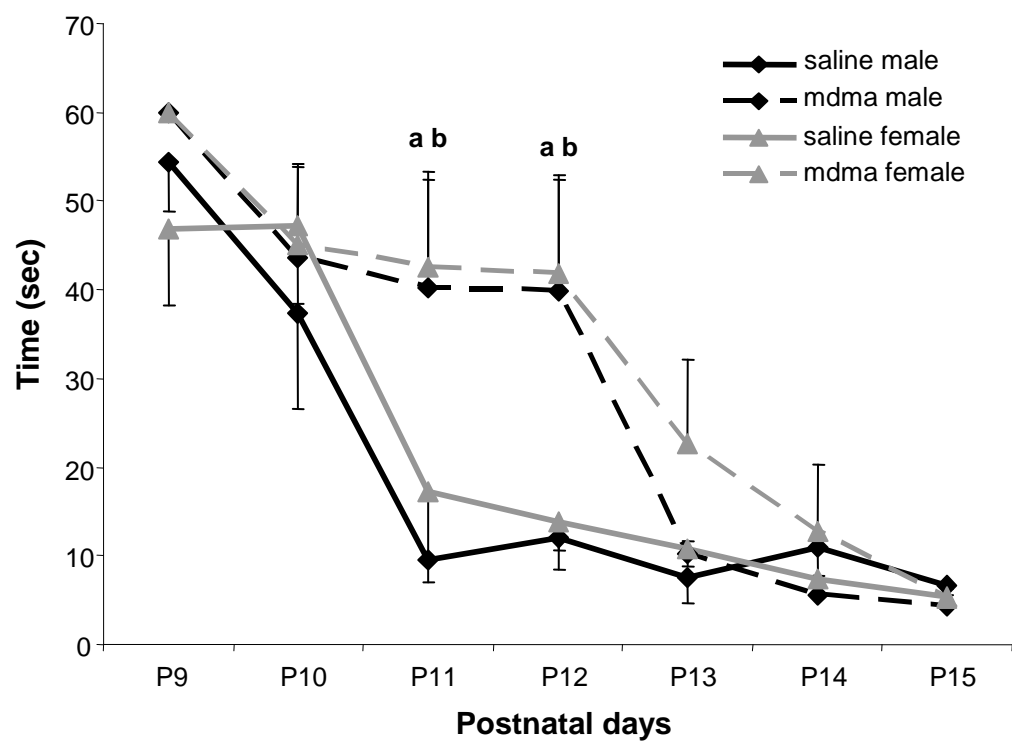


Figure 2

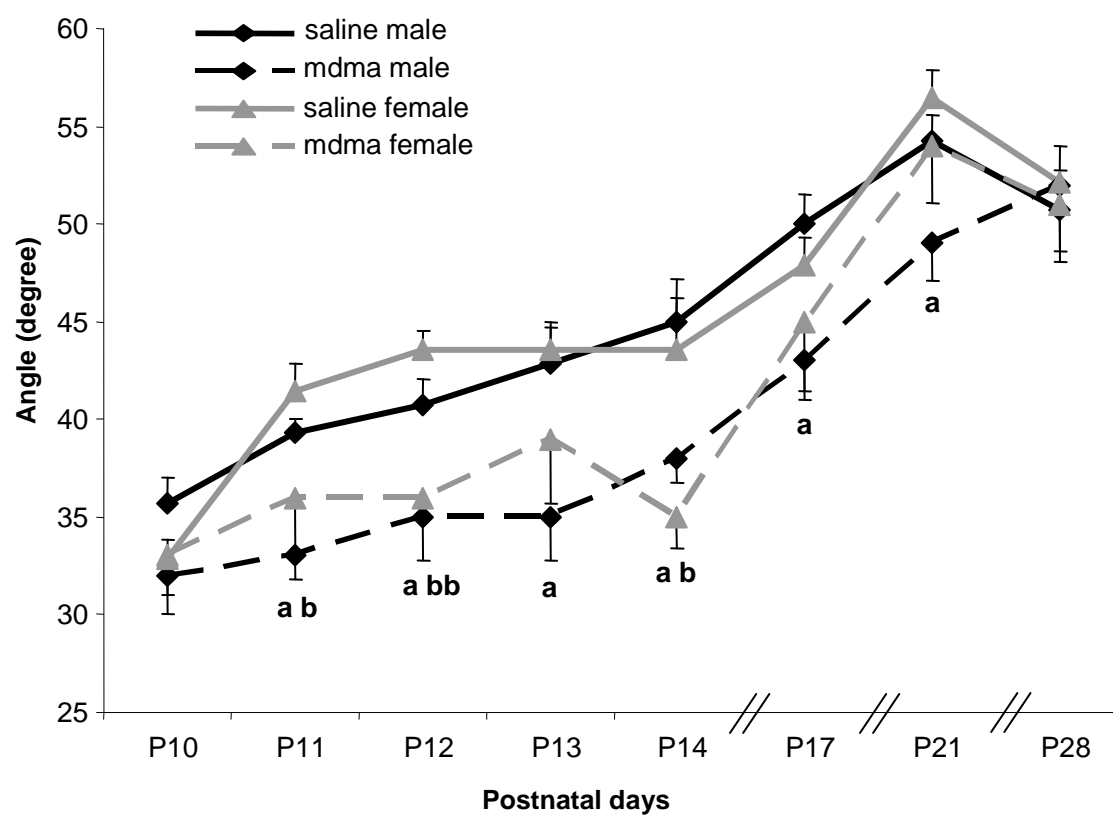
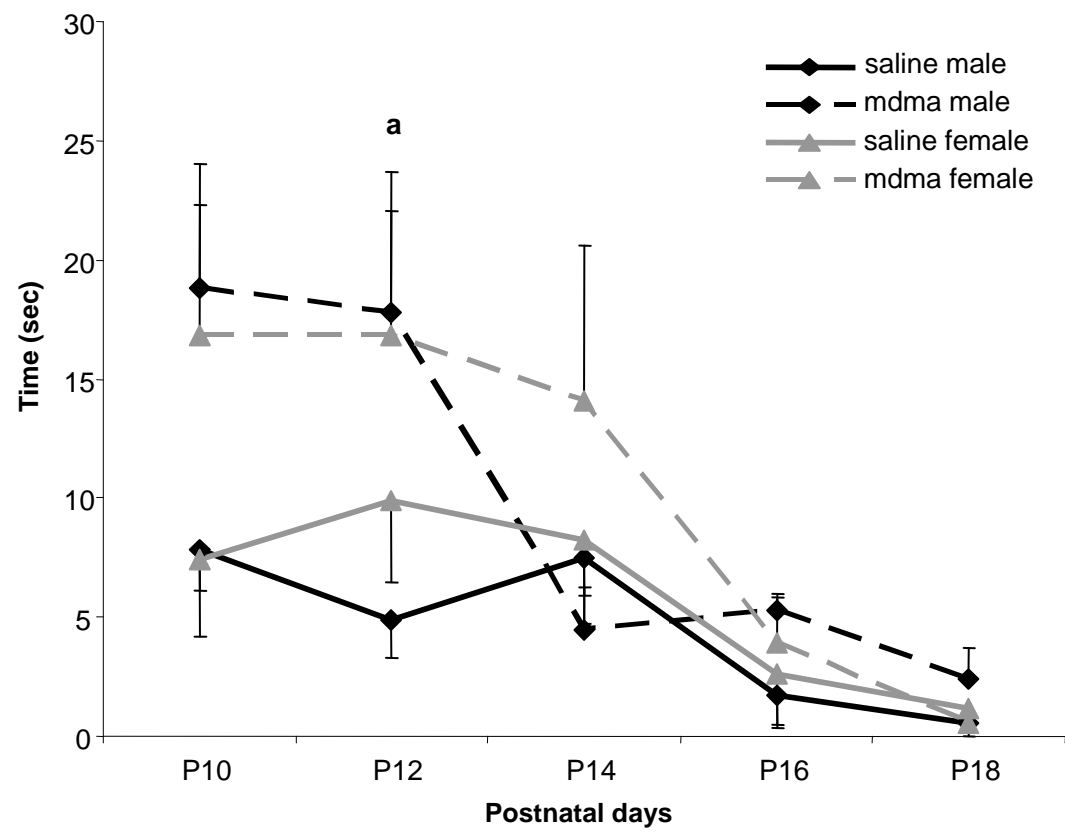


Figure 3







## Effets de l'exposition prénatale au MDMA (« Ecstasy ») ou au méthylphénidate sur les systèmes dopaminergiques chez le rat adulte.

### Résumé

L'Ecstasy (MDMA) et le Méthylphénidate (MPH) sont des psychostimulants qui agissent sur les systèmes monoaminergiques. L'exposition prénatale à ces molécules peut affecter les processus de maturation cérébrale et induire des effets à long terme sur le fonctionnement de ces systèmes. Notre étude a consisté en l'exploration des voies nigrostriée et mésocorticolimbique du système dopaminergique chez des rats adultes exposés en prénatal au MDMA ou au MPH, par la quantification de marqueurs du développement et de la neurotransmission dopaminergique. L'exposition prénatale au MDMA induit des altérations au niveau du mésencéphale et des projections mésocorticales impliquées dans les fonctions exécutives, et n'a peu ou pas d'effet sur les voies nigrostriée et mésolimbique. A l'inverse, l'exposition prénatale au MPH entraîne des modifications de ces deux voies, très impliquées dans le comportement de récompense. Ces résultats soulignent les effets sexe-dépendants et/ou région-spécifiques de l'exposition prénatale au MDMA ou au MPH.

*Autoradiographie ; BDNF ; Dopamine ; MDMA ; Méthylphénidate ; Microdialyse ; Neurogénèse ; Préférence de lieu conditionnée à la cocaïne.*

### Abstract

Ecstasy (MDMA) and Methylphenidate (MPH) are psychostimulants that act on monoaminergic systems. Prenatal exposure to these drugs may affect the brain maturation and induces long-term effects on the functioning of these systems. The present study was designed to explore the dopaminergic pathways in adult rats exposed to MDMA or MPH during prenatal period. Neurochemical evaluations of nigrostriatal and mesocorticolimbic pathways were performed by quantification of vesicular DA level and DA markers, such as tyrosine hydroxylase, DA transporters and receptors, in the nerve endings and body cells of dopaminergic neurons. Prenatal exposure of MDMA induces specific alterations in the midbrain and in the mesocortical dopaminergic projections with a higher vulnerability in female progeny and has little or no effect in mesolimbic and nigrostriatal projections. Inversely, a prenatal exposure to MPH led to structural alterations in these two dopaminergic pathways highly involved in rewarding process. These findings underlined for the first time a basis for sex- and/or region-selective effects of prenatal MDMA or MPH exposure.

*Autoradiography ; BDNF ; Cellular proliferation ; Conditioned Place Preference ; Dopamine ; MDMA ; Methylphenidate ; Microdialysis.*